

**Serologische Untersuchung der Auswirkung von Fettsäuren auf
den systemischen Knochenstoffwechsel und Inflammation nach
parodontaler Infektion**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Viktoria Katharina Iffarth

geboren am 03.05.1994 in Starnberg

Gutachter

1. PD Dr. Ulrike Schulze-Späte, Jena
2. Prof. Dr. Dr. Collin Jacobs, Jena
3. Prof. Dr. Werner Götz, Bonn

Tag der öffentlichen Verteidigung: 01.12.2020

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
1. Zusammenfassung	1
2. Einleitung.....	3
2.1. Parodontitis	5
2.1.1. Klassifikation und Prävalenz parodontaler Erkrankungen	5
2.1.2. Ätiologie der Erkrankung	6
2.1.3. Pathomechanismus der Parodontitis	8
2.1.4. <i>Porphyromonas gingivalis</i> - ein Leitkeim der Parodontitis	10
2.1.5. Wichtige Inflammationsmetabolite bei Parodontitis	11
2.2. Knochenmetabolismus	13
2.2.1. Aufbau und Struktur des Knochens	13
2.2.2. Knochenstoffwechsel und klinisch messbare Stoffwechselfparameter im Serum...13	
2.2.3. Regulation des Knochenstoffwechsels durch proinflammatorische Zytokine.....15	
2.3. Fettstoffwechsel	17
2.3.1. Struktur und Nomenklatur der gesättigten und ungesättigten Fettsäuren.....17	
2.3.2. Systemische Auswirkungen von Fettsäuren	19
2.3.3. Auswirkung von Palmitinsäure auf Inflammation und Knochenstoffwechsel	20
2.3.4. Auswirkung von Ölsäure auf Inflammation und Knochenstoffwechsel.....21	
2.3.5. Übergewicht als Ursache systemischer Inflammation	22
2.3.6. Definition von Übergewicht und Adipositas	24
3. Ziele der Arbeit	25
4. Material und Methoden.....	27
4.1. Geräte	27
4.2. Verbrauchsmaterialien	27
4.3. Chemikalien	27
4.4. Reagenziensysteme	28
4.5. Tiere und Studiendesign.....	28
4.5.1. Stellungnahme zur Ethik.....	28
4.5.2. Allgemeine Haltungsbedingungen.....	28
4.5.3. Tierversuchsaufbau und Gruppeneinteilung	28
4.5.4. <i>Porphyromonas gingivalis</i> Infektion	31
4.5.5. Gewinnung und Vorbereitung der Serumproben.....	32
4.6. ELISA zur Proteinbestimmung	32
4.6.1. IL-6 und TNF- α	33
4.6.2. OC, P1NP und CTX.....	33
4.7. Statistische Auswertung	34

5. Ergebnisse.....	35
5.1. Gewichtszunahme in Abhängigkeit von der Diät	35
5.2. Analyse des Serumproteingehalts der Inflammationsmarker IL-6 und TNF- α	36
5.2.1. Untersuchung der IL-6 Produktion auf Proteinebene hinsichtlich Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit <i>P. gingivalis</i>	37
5.2.2. Untersuchung der TNF- α Produktion auf Proteinebene hinsichtlich Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit <i>P. gingivalis</i>	40
5.3. Analyse der systemischen Marker des Knochenmetabolismus.....	41
5.3.1. Untersuchung der CTX Produktion auf Proteinebene hinsichtlich Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit <i>P. gingivalis</i>	42
5.3.2. Untersuchung der OC Produktion auf Proteinebene hinsichtlich Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit <i>P. gingivalis</i>	44
5.3.3. Untersuchung der P1NP Produktion auf Proteinebene hinsichtlich Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit <i>P. gingivalis</i>	47
5.3.4. Zusammenfassende Betrachtung des Knochenremodelings.....	49
6. Diskussion	50
7. Schlussfolgerungen	62
8. Literatur- und Quellenverzeichnis	63
9. Anhang.....	78
9.1. Tabellenverzeichnis.....	78
9.2. Abbildungsverzeichnis	79
9.3. Danksagung.....	80
9.4. Ehrenwörtliche Erklärung	81

Abkürzungsverzeichnis

[ns]	nicht signifikant
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
BMI	Body-Mass-Index
BRU	<i>Bone remodeling unit</i>
C-Atom	Kohlenstoffatom
CFU	<i>colony forming units</i>
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CTX	C-terminales Telopeptid von Kollagen Typ I
DHA	Docosahexaensäure
DMS IV/V	Deutsche Mundgesundheitsstudie IV/V
ELISA	<i>Enzyme-linked immunoabsorbent assay</i>
EPA	Eicosapentaensäure
et al.	et alii/ae/a
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobakterium nucleatum</i>
FFS	freie Fettsäuren
FS	Fettsäure
g	Gramm
HF	<i>high fat</i>
HFD	<i>high fat diet</i>
IFN- γ	Gamma-Interferon
IL-6	Interleukin 6
K	Kontrollgruppe
kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
LF	<i>low fat</i>
LFD	<i>low fat diet</i>
LPS	Lipopolysaccharide
m	Meter
ml	Milliliter
MMP	Matrix-Metalloproteasen
n	Anzahl
ng	Nanogramm
OA	<i>Oleic acid</i>

OB	Osteoblasten
OC	Osteokalzin
OK	Osteoklasten
OPG	Osteoprotegerin
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P.g.</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
P1NP	N-terminales Propeptid des Prokollagen Typ I
PA	<i>Palmitic acid</i>
pg	Picogramm
PMN	polymorphkernige neutrophile Granulozyten
RANK	<i>receptor activator of nuclear factor κB</i>
RANKL	<i>receptor activator of nuclear factor κB ligand</i>
SEM	Standardfehler
SPF	spezifisch pathogenfrei
TAG	Triacylglycerid
TGF- β	<i>transforming growth factor-β</i>
TNF- α	<i>tumor necrosis factor - α</i>
vs.	versus
WHO	World Health Organisation

1. Zusammenfassung

Der Zusammenhang zwischen Ernährung und Zahngesundheit ist ein hoch aktuelles Thema und wurde als wichtiger Präventionsansatz auch in vielerlei Hinsicht schon untersucht. Die Auswirkungen von speziellen Fetten aus der Ernährung, insbesondere auf die inflammatorische Parodontitis, ist jedoch noch nicht ausreichend erforscht. Die vorliegende Arbeit baut auf einer murinen Studie von Muluke et al. (Muluke, Gold et al. 2016) auf, welche die Auswirkungen gesättigter und ungesättigter Fettsäuren unter Adipositas bei parodontaler Infektion untersuchte. In einer weiterführenden Studie mit vergleichbarem Versuchsaufbau wurden nun die Effekte v.a. hinsichtlich unterschiedlicher Sättigung bei Normalgewicht eruiert. In dieser neuen Studie, deren Ergebnisse die Grundlage der vorliegenden Dissertation sind, wurden für die Untersuchung die am häufigsten in der westlichen Ernährung vorkommenden Fettsäuren Palmitin- und Ölsäure verwendet.

Der Versuch wurde analog zu dem Versuchsaufbau von Muluke et al. (2016) durchgeführt. Die Versuchstiere wurden mit fettsäureangereichertem Futter ernährt und mit dem parodontalpathogenen Keim *P. gingivalis* oral infiziert. Postmortal wurden im Serum mittels ELISA die Entzündungsmarker IL-6 und TNF- α sowie die ausgewählten Marker des Knochenstoffwechsels P1NP, OC und CTX bestimmt.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Aufnahme einer Palmitinsäure-reichen Ernährung bei Normalgewicht keine systemische Inflammation oder eine Beeinträchtigung des Knochenremodelings provozierte. Interessanterweise stieg jedoch unter adipösen Voraussetzungen das Inflamationslevel, insbesondere bei der Aufnahme von Palmitinsäure im Vergleich zu mediterran verwendeter Ölsäure, wie die Versuche von Muluke et al. (2016) zeigten. Die neuen Ergebnisse deuten aus diesem Grund darauf hin, dass vermutlich ein synergistischer Zusammenhang zwischen der proinflammatorischen Adipositas und der ebenfalls die systemische Inflammation begünstigende Palmitinsäure-angereicherte Ernährung besteht. Dies könnte möglicherweise über ein erhöhtes Level freier Fettsäuren bzw. vor allem freier Palmitinsäure im Blut bei Übergewicht im Gegensatz zu Normalgewicht vermittelt werden.

Die Auswirkungen der Ölsäure-Diätvariante verhielten sich bei Normalgewicht vergleichbar zur Palmitinsäure-Diät. Bei beiden Konditionen lag das systemische Entzündungslevel und die Knochenmarker ähnlich jenen der Kontrollgruppe. Ölsäure hatte somit keinen signifikanten negativen Einfluss auf die serologischen Entzündungsparameter oder den Knochenstoffwechsel. Während die Kombination aus Palmitinsäure-haltiger Diät mit

anschließender Ölsäure-haltiger Diät die systemischen Inflammationsparameter unter Übergewicht bei vorangegangenen Studien verbesserten, zeigte sich durch den Diätenwechsel bei Normalgewicht keine Veränderung.

Die westliche Diät ist eine weit verbreitete Ernährungsweise, die häufig hochkalorisch und reich an gesättigten Fetten ist. Übergewicht als Folge dieser Ernährung stellt dabei langfristig ein großes Risiko dar, da es als begünstigender Faktor vieler Erkrankungen weltweit zu einem gesundheitlichen Problem werden kann. Auch für die Gesundheit des Zahnhalteapparates ist es wichtig, die Risikofaktoren umfassend zu eruieren, um sie künftig präventiv verbessern zu können. Da die Ergebnisse dieser Studie darauf hindeuten, dass eine westliche Diät reich an gesättigten Fettsäuren bei Normalgewicht keinen negativen Einfluss auf das Entzündungsgeschehen und den Knochenstoffwechsel bei parodontaler Infektion haben, kann somit in erster Linie zunächst die Vermeidung von Übergewicht als Prävention von Parodontalerkrankungen angestrebt werden.

2. Einleitung

In Deutschland steigt die durchschnittliche Lebenserwartung seit vielen Jahren sukzessiv an. Laut dem Statistischen Bundesamt hat ein 2015 geborener Junge eine durchschnittliche Lebenserwartung von 78,4 Jahren, ein Mädchen wird durchschnittlich sogar 83,4 Jahre alt (vdek 2019). Ausschlaggebend für diese Entwicklung ist u.a. die Reduktion der Sterblichkeit infolge chronischer Krankheiten (Lampert, Kroll et al. 2007).

Dabei ist auch im hohen Alter die bestmögliche Erhaltung der Lebensqualität ein angestrebtes Ziel. Ein Faktor, welcher die Lebensqualität und das Wohlbefinden im Alter deutlich beeinflusst, ist die Mundgesundheit. Orale Erkrankungen stellen zwar meist keine lebensbedrohliche Situation dar, dennoch hat eine eingeschränkte Mundgesundheit einen nachweisbaren negativen Einfluss auf das allgemeine Wohlbefinden. Die Bandbreite möglicher unangenehmer Empfindungen ist dabei umfangreich und reicht von Schwierigkeiten beim Sprechen und Kauen bis hin zu Schmerzen und funktionellen bzw. psychosozialen Einschränkungen (John, LeResche et al. 2003, Hassel, Koke et al. 2005). Speziell die Anzahl der Zähne korreliert dabei positiv mit der allgemeinen Zufriedenheit (Elias and Sheiham 1999).

Die Prävalenz verschiedener Erkrankungen des stomatognathen Systems unterlag in der Vergangenheit einem positiven Wandel. Sowohl die Karies- als auch die Parodontitisprävalenz sanken zwischen den Erhebungen der vierten Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS IV) und der DMS V (Micheelis and Schiffner 2006, Jordan and Micheelis 2016). Dennoch ist die Parodontitisprävalenz noch immer sehr hoch. Die schwere Form der Parodontitis (Taschentiefe ≥ 5 mm bzw. Attachmentverlust ≥ 6 mm) ist weltweit die sechst häufigste Krankheit, ihre Prävalenz liegt aktuell bei durchschnittlich 11,2 % (Kassebaum, Bernabe et al. 2014, Frencken, Sharma et al. 2017). Da Parodontitis positiv mit dem Alter korreliert (Wu, Dong et al. 2016), wird sie im Rahmen der steigenden Lebenserwartung auch in Zukunft ein weltweites Problem darstellen. Die starke Progredienz der Krankheitslast mit zunehmendem Alter verdeutlichen die Untersuchungen der DMS V. Der Anteil erkrankter Erwachsener lag in Studien bei 52 %, bei älteren Senioren waren sogar 90 % an Parodontitis erkrankt (Jordan and Micheelis 2016). Da Parodontitis eine Hauptursache für Zahnverlust und dadurch ein großes Risiko für den damit assoziierten Verlust der Zufriedenheit darstellt (Wu, Dong et al. 2016, Hierse 2017), fällt der Prävention und Therapie eine besondere Bedeutung zu, um die Lebensqualität im Alter zu verbessern.

Um dieses Ziel zu erreichen, ist zunächst die Determination und Eliminierung von Risikofaktoren bedeutsam. Rauchen stellt bekannter Weise ein schwerwiegendes Gesundheitsrisiko dar, welches neben vielen anderen Krankheiten auch mit Parodontalerkrankungen assoziiert ist (Johannsen, Susin et al. 2014). Mittlerweile weiß man, dass Adipositas bzw. ein erhöhter Body-Mass-Index (BMI) ebenfalls ein Risiko bzw. Ursache für viele verschiedene Komorbiditäten darstellt (Guh, Zhang et al. 2009). Nach dem Rauchen stellt sie vermutlich den zweitgrößten Risikofaktor für Parodontitis dar (Nishida, Tanaka et al. 2005). Die Prävalenz der Adipositas weist zudem eine steigende Tendenz auf (N. C. D. Risk Factor Collaboration 2017). Bereits mehr als zwei Drittel der Männer und die Hälfte der Frauen in Deutschland sind übergewichtig (Mensink, Schienkiewitz et al. 2013).

Eine Ursache des Gewichtstrends könnte die westliche Ernährung sein, denn diese ist häufig sehr kalorien- und fettreich. Fett hat jedoch eine mehr als doppelt so hohe Energiedichte wie Kohlenhydrate oder Protein (Haller, Rimbach et al. 2013) und führt somit rasch zu einem Energieüberschuss und damit zu Übergewicht (Hill, Wyatt et al. 2003, Strasser, Spreitzer et al. 2007). Dabei ist nicht allein das Übergewicht problematisch, sondern auch der Verzehr gesättigter Fettsäuren. 76 % der Frauen und 80 % der Männer verzehren mehr Fett als empfohlen (Max-Rubner-Institut 2008). Da die häufigste Fettsäure der westlichen Diät die gesättigte Palmitinsäure ist, gilt die Aufmerksamkeit der Forschung auch immer mehr ihren Auswirkungen. Aktuelle Studien berichten von negativen Einflüssen der Palmitinsäure bei Übergewicht und auf die parodontale Situation (Muluke, Gold et al. 2016). Dabei ist jedoch kaum zu differenzieren, ob das Zusammenspiel der gesättigten Fettsäure mit der Adipositas oder die Fettsäure an sich schon für eine negative Beeinflussung der Parodontitis sorgt. Dies gilt es herauszufinden.

2.1. Parodontitis

2.1.1. Klassifikation und Prävalenz parodontaler Erkrankungen

Der Zahnhalteapparat, auch als Parodont bzw. Parodontium bezeichnet, setzt sich aus den vier wesentlichen Hauptbestandteilen Gingiva, Wurzelzement, Alveolarknochen und Desmodont (Wurzelhaut) zusammen. Das Parodont erfüllt verschiedene Aufgaben, vor allem die stabile und zugleich flexible Verankerung des Zahnes im Knochen (Hellwig, Klimek et al. 2013).

Parodontale Erkrankungen sind überwiegend entzündlicher Natur (Amaechi, Porteous et al. 2013). Wird das Parodont dabei irreversibel beschädigt, kann dies den Zahnverlust zur Folge haben (Saito, Shimazaki et al. 2019).

Die aktuelle Klassifikation der möglichen Parodontalerkrankungen erfolgt derzeit in Anlehnung an die Klassifikation aus dem Jahr 1999 (Armitage 1999) in drei unterschiedlichen Kategorien, von denen die zwei für diese Dissertation relevanten Kategorien Abb. 1 dargestellt sind (American Academy of Periodontology 2001, Caton J, Armitage et al. 2018). Die aufgezeigten Kategorien haben darüber hinaus auch die höchste Prävalenz unter den parodontalen Erkrankungen (American Academy of Periodontology 2001).

Periodontal Diseases and Conditions					
Periodontal Health, Gingival Diseases and Conditions			Periodontitis		
Chapple, Mealey, et al. 2018 Consensus Rept link			Papapanou, Sanz et al. 2018 Consensus Rept link		
Trombelli et al. 2018 Case Definitions link			Jepsen, Caton et al. 2018 Consensus Rept link		
			Tonetti, Greenwell, Kornman. 2018 Case Definitions link		
Periodontal Health and Gingival Health	Gingivitis: Dental Biofilm-Induced	Gingival Diseases: Non-Dental Biofilm-Induced	Necrotizing Periodontal Diseases	Periodontitis	Periodontitis as a Manifestation of Systemic Disease

Abb. 1 Klassifikation parodontaler Erkrankungen und Zustände

Modifiziert nach (Caton J, Armitage et al. 2018)

Die Prävalenz der inflammatorischen Parodontitis ist aktuell sehr hoch und nimmt mit steigendem Alter weiter zu (Jordan and Micheelis 2016). Die Erhebung der DMS V zeigt auf, dass Erkrankungen des Zahnhalteapparates ein aktuelleres Problem denn je sind, in höheren Altersgruppen mit einem Anteil betroffener Personen bis zu 90 % (siehe Tab. 1).

Parodontitis kann dabei zur systemischen Entzündungssituation beitragen und final zu Zahnverlust führen (Kinane, Stathopoulou et al. 2017), was laut aktuellen Studien sogar mit

Schäden der mentalen Gesundheit und Depressionen assoziiert sein kann (Hassel 2007, Kisely, Baghaie et al. 2015, Ehrental, Graetz et al. 2016).

Tab. 1 Parodontitisprävalenz verschiedener Altersgruppen in der DMS IV und V

Altersgruppe (Jahre)	DMS IV	DMS V
Erwachsene (35 – 44)	71 %	52 %
Jüngere Senioren (65-74)	92 %	65 %
Ältere Senioren (75-100)	*	90 %

Anteil der als „moderat“ und „schwer“ klassifizierter Parodontalerkrankung in Prozent, aus (Jordan and Micheelis 2016). *Die Altersgruppe „ältere Senioren“ wurde in der DMS V erstmalig erfasst, es sind keine Vergleichsdaten aus der DMS IV vorhanden

Da Parodontitis zu erhöhten systemischen Konzentrationen von Inflammationsmarkern wie dem C-reaktiven Peptid und proinflammatorischen Zytokinen führen kann (Pihlstrom, Michalowicz et al. 2005), stellt sie einen Risikofaktor für kardiovaskuläre Krankheiten, Schlaganfälle und andere gesundheitsgefährdende Situationen dar (Graves, Jiang et al. 2000). Besonders in Hinblick auf die weite Verbreitung fällt ihrer Therapie daher nicht nur bezüglich der Erhaltung parodontalen Strukturen und damit der Zähne eine wichtige Rolle zu, sondern auch zur Erhaltung der Allgemeingesundheit.

Das Ziel ist die Reduktion der klinischen Inflammation, das Verlagern des oralen Mikrobioms zu einer weniger parodontalpathogenen Flora und die Verhinderung der Progredienz des Attachmentverlustes bzw. das Reattachement (American Academy of Periodontology 2001).

Um mögliche Ansatzpunkte für Präventionsmaßnahmen zu entwickeln, ist die Kenntnis genauer Pathomechanismen und Risikofaktoren für die Entwicklung einer Parodontitis essentiell. Diese werden im nächsten Kapitel dargestellt.

2.1.2. Ätiologie der Erkrankung

Parodontitis ist eine chronische entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, welche mit einem Verlust von Attachment einhergeht und zu Verlust von Weichgewebe und Alveolarknochen führen kann (Pihlstrom, Michalowicz et al. 2005, Wu, Dong et al. 2016). Sie gilt als die häufigste osteolytische humane Krankheit (Wu, Dong et al. 2016). Ursache für eine parodontale Entzündung können u.a. mechanische, systemische, genetische oder endodontale Faktoren sein. Hauptsächlich wird die Parodontitis durch Mikroorganismen im

pathogenen Biofilm hervorgerufen (Armitage 1999, Graves, Jiang et al. 2000, Meyle and Chapple 2015). Abb. 2 zeigt eine Übersicht, welche jene Mechanismen darstellt, die vom klinisch gesunden Patienten zu dem an Parodontitis erkrankten Patienten führen können.

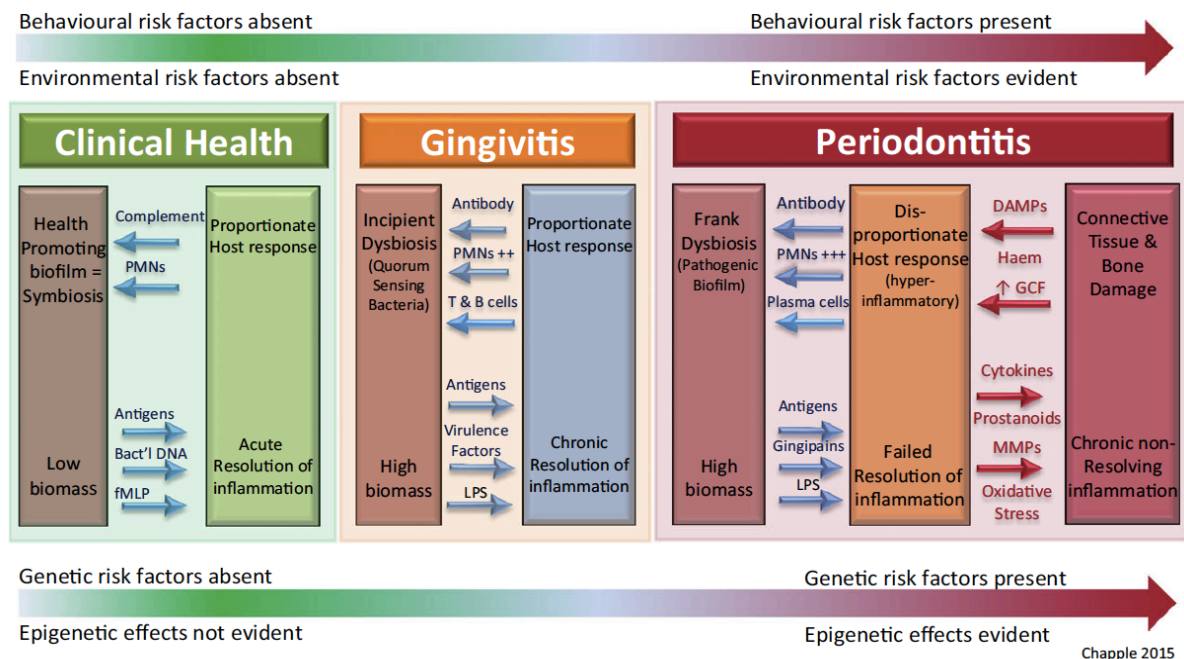


Abb. 2 Einflussfaktoren und Pathogenese der Parodontitisentstehung

Dargestellt sind Mechanismen und Faktoren, welche von einer klinisch gesunden Ausgangssituation (grün) zur Gingivitis (orange) bzw. Parodontitis (rot) führen können. Wird der Biofilm nicht entfernt, entwickelt er sich zu einem anfänglichen und später zu einem etablierten dysbiotischen Biofilm. Die Immunantwort des Wirtes reagiert bei Parodontitis überschießend und zerstört zunehmend körpereigenes Gewebe.

DAMPs, *damage-associated molecular patterns*; fMLP, *N-formylmethionyl-leucyl-phenylalanine*; GCF, *gingival crevicular fluid*; LPS, *lipopolysaccharide*; MMPs, *matrix metalloproteinases*; PMNs, *polymorphonuclear neutrophils*. Aus (Meyle and Chapple 2015)

Auch bei gesunden Individuen stellt die Mundhöhle ein Habitat für über 500 Bakterienspezies dar (Mysak, Podzimek et al. 2014). Dabei können wir von vielen der physiologischen Mikroben, sog. Kommensalen, profitieren. Durch die Besiedelung verschiedenster Nischen verhindern sie, dass pathogene Keime diese okkupieren und Schäden verursachen (Pihlstrom, Michalowicz et al. 2005). Dies wird als Kolonisationsresistenz bezeichnet (Roberts and Darveau 2015). Andererseits finden sich in der Mundflora auch Gruppen von Mikroorganismen, die Krankheiten verursachen oder begünstigen können, sog. Pathobionten (Jiao, Hasegawa et al. 2014). Es besteht die Theorie, dass der parodontal gesunde Patient eine Balance zwischen einem symbiotisch zusammengesetzten Biofilm aus Kommensalen und einer angemessen ausgeprägten Immunantwort aufweist. Entsteht hingegen, z.B. durch die mangelnde Regelmäßigkeit der Plaqueentfernung, ein dysbiotischer Biofilm mit einem

Übermaß an Pathobionten, gerät dieses Gleichgewicht in Schieflage (Meyle and Chapple 2015). Die Reaktion auf diese Imbalance kann unterschiedlich sein und wird dabei auch durch mehr oder weniger prädisponierende exogene und endogene Faktoren des Wirtsorganismus moduliert (Pihlstrom, Michalowicz et al. 2005, Meyle and Chapple 2015).

Es wird weiter zwischen anfälligen und nicht anfälligen Patienten differenziert. Nicht-Parodontitis-anfällige Patienten verfügen u.a. über eine angemessene Immunreaktion auf die Mikroorganismen. Der dysbiotische Biofilm kann bei ihnen zu einer Gingivitis führen, eine Progredienz zur Parodontitis entwickelt sich bei diesen Patienten hingegen nicht. Anfällige Patienten reagieren mit einer überschießenden Immunantwort auf einen dysbiotischen Biofilm. Sie weisen dadurch ein größeres Risiko auf, an Parodontitis zu erkranken (Garlet 2010, Benakanakere, Abdolhosseini et al. 2015, Meyle and Chapple 2015). Demnach ist die Wirtsantwort auf die bakterielle Belastung bei der Entstehung einer Parodontitis von entscheidender Bedeutung (Page and Kornman 1997). Bislang differenziert man diverse exo- und endogenen Faktoren, welche die Wirtsantwort beeinträchtigen und die Krankheit begünstigen. Rauchen gilt dabei als Hauptrisikofaktor für Parodontitis, zudem kann Übergewicht mittlerweile als zweitwichtigster Risikofaktor eingestuft werden. Aber auch das Alter, Geschlecht und Häufigkeit der Plaqueentfernung (Nishida, Tanaka et al. 2005) sowie Allgemeinerkrankungen wie Diabetes mellitus (Pihlstrom, Michalowicz et al. 2005) haben Einfluss auf die Parodontitis.

2.1.3. Pathomechanismus der Parodontitis

Wie bereits erwähnt, sind häufigste Ursache der Parodontitis pathogene Mikroorganismen im Biofilm (Meyle and Chapple 2015). Welche Pathomechanismen infolge dessen zur parodontalen Destruktion führen, wird in diesem Kapitel kurz erläutert.

Im klinisch gesunden Zustand überwachen Leukozyteninfiltrate als „kontrollierte Inflammation“ die vorherrschende basale mikrobielle Belastung. Mikroorganismen und Wirts-Immunantwort bilden eine Symbiose und eine Erkrankung bleibt aus (siehe grüner Bereich „Clinical Health“ in Abb. 2). Diese Symbiose wird dabei meist nicht von genetischen, Verhaltens- oder Umweltfaktoren gestört (Meyle and Chapple 2015).

Gerät dieses empfindliche Gleichgewicht allerdings aus der Balance, lassen sich bei der Entwicklung einer anfänglichen Gingivitis und anschließenden Parodontitis folgende klinische Stadien beobachten:

Zunächst entsteht nach ca. vier Tagen Plaqueakkumulation die ‚initiale Läsion‘ (Smith, Seymour et al. 2010). Mikroorganismen bzw. ihre metabolischen Endprodukte auf der mukosalen Oberfläche aktivieren das Immunsystem, welches mit einer Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie z.B. Interleukin (IL)-1 β , IL-6 und IL-8, *tumor necrosis factor* (TNF)- α und Bildung reaktiver Sauerstoffverbindungen reagiert (Chapple and Matthews 2007, Smith, Seymour et al. 2010, Meyle and Chapple 2015). Es kommt u.a. zur Aktivierung des Komplementsystems und der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN). Eine Vasodilatation mit gesteigerter Gefäßpermeabilität ist die Folge. Dies ermöglicht die Migration der PMN ins Gewebe, wo sie chemotaktisch gesteuert zum Ort der Infektion wandern und dort die Mikroorganismen phagozytieren. Dabei schädigen sie allerdings auch das körpereigene Gewebe. (Cicchetti, Allen et al. 2002, Smith, Seymour et al. 2010, Meyle and Chapple 2015). Sowohl die vermehrte als auch verminderte Aktivierung, Rekrutierung und Präzision der PMN können die Entstehung der Parodontitis begünstigen (Meyle 1994, Eskan, Jotwani et al. 2012, Roberts, Ling et al. 2015).

Nach insgesamt ca. vier bis sieben Tagen ungestörter Plaqueakkumulation entsteht die ‚frühe Läsion‘. Sie ist durch eine zunehmend größere Anzahl von v.a. T-Lymphozyten, Makrophagen und einem perivaskulären Infiltrat sowie fortschreitenden Kollagenabbau und somit Gewebedestruktion charakterisiert (American Academy of Periodontology 1999, Smith, Seymour et al. 2010).

Im Stadium der ‚etablierten Läsion‘, welche nach ca. zwei bis drei Wochen Plaqueakkumulation entsteht (Page and Schroeder 1976) und von B-Lymphozyten und Plasmazellen dominiert wird (American Academy of Periodontology 1999), kann die Krankheit ohne alveolaren Knochenverlust über Jahre bis Jahrzehnte persistieren (Page and Schroeder 1976). Genannte Mechanismen sind in Abb. 2 im orangenen Bereich „Gingivitis“ zusammengefasst.

Folgt jedoch die Progression zur ‚fortgeschrittenen Läsion‘, dominieren weiterhin Plasmazellen und es kommt zudem zum Verlust von Alveolarknochen und Parodontalligament, zur Zerstörung der Gewebsarchitektur und Fibrose (Page and Schroeder 1976). Die bakteriellen Virulenzfaktoren, v.a. Lipopolysaccharide (LPS), aktivieren körpereigene Zellen wie Monozyten, Lymphozyten und Fibroblasten. Diese stimulieren wiederum die Ausschüttung von Zytokinen und Inflammationsmediatoren, welche ihrerseits die Ausschüttung von Matrix-Metalloproteasen (MMP) fördern, die zur Destruktion extrazellulärer Matrix und des Knochens führen (American Academy of Periodontology 1999). Eine überschießende Wirtsantwort schädigt den Zahnhalteapparat mit körpereigenen

Enzymen wie Elastasen und Kollagenasen, siehe Abb. 2 roter Bereich „Periodontitis“ (Meyle and Chapple 2015).

Der Übergang von einer reversiblen Gingivitis zur irreversiblen Parodontitis wird zudem durch das tiefere Eindringen parodontalpathogener Keime in das Bindegewebe gefördert. So kommt die Inflammation stärker mit dem Alveolarknochen in Kontakt, was wiederum die körpereigene Ausschüttung lytischer Enzyme, die Radikalbildung, Osteoklastogenese und damit den Gewebeabbau fördert (Graves, Jiang et al. 2000). Initiale, frühe und etablierte Läsion können klinisch der Gingivitis zugeordnet werden, wohingegen die fortgeschrittene Läsion sich klinisch als Parodontitis darstellt (Page and Schroeder 1976).

2.1.4. *Porphyromonas gingivalis* - ein Leitkeim der Parodontitis

Im Laufe der Zeit entwickeln sich im Biofilm lokale und vor allem anaerobe Umweltbedingungen, welche die Ansiedelung von Leitkeimen begünstigen, die eine starke Assoziation zur Parodontitis aufweisen (Jenkinson and Lamont 2005). Beispielsweise gilt *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* als wichtiger parodontalpathogener Keim, welcher vor allem mit aggressiven Krankheitsverläufen bei jungen Patienten assoziiert ist (American Academy of Periodontology 1999, Graves, Jiang et al. 2000). Darüber hinaus findet sich in den komplexen Bakteriengemeinschaften zunehmend eine Gruppe pathogener Keime, die besonders eng mit fortgeschrittenen parodontalen Läsionen verbunden ist. Sie wird daher als „roter Komplex“ bezeichnet und besteht aus den Keimen *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* und *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis* bzw. *P.g.*) (Bodet, Chandad et al. 2007). Da *P. gingivalis* die Fähigkeit der zellulären Invasion besitzt (Wolf, Rateitschak et al. 2004), sich dadurch zum einen sehr wirksam im Epithel ansiedeln kann (American Academy of Periodontology 1999) und zum anderen auf Grund seiner umfangreichen Virulenzfaktoren als besonders potenter parodontalpathogener Keim eingestuft wird, wurde er für die der Dissertation zugrundeliegende Studie zur Induktion einer parodontalen Infektion ausgewählt und wird im Folgenden detaillierter vorgestellt.

P. gingivalis ist ein gramnegatives, anaerobes Stäbchen. Er ist ein Teil des natürlich vorkommenden oralen Mikrobioms, kann sich aber auch zu einem hochpotenten parodontalpathogenen Keim entwickeln (Mysak, Podzimek et al. 2014) und wird vor allem bei Patienten mit schweren chronischen Parodontitisverläufen gefunden (Yilmaz and Lee 2015). *P. gingivalis* ist in der Lage, die Zusammensetzung des oralen Mikrobioms zu beeinflussen. Er hat Mechanismen entwickelt, um die Wirts-Immunantwort zu seinen Gunsten

zu manipulieren und so u.a. eine vorteilhafte Umgebung für andere parodontalpathogene Keime wie *Fusobakterium nucleatum* und *Treponema denticola* zu schaffen (Jenkinson and Lamont 2005, Yilmaz and Lee 2015). *P. gingivalis* kann überdies das Komplementsystem und Makrophagen aktivieren und damit eine stetige Inflammation provozieren (Meyle and Chapple 2015).

Zu den Virulenzfaktoren, die bei *P. gingivalis* bislang identifiziert wurden, zählen Fimbrien, eine Polysaccharid-Kapsel, Lipopolysaccharide und Proteinasen (siehe Abb. 3). Fimbrien ermöglichen z.B. die Anheftung an Epithelzellen und damit die zelluläre Invasion. Die Gewebsinvasion wird zusätzlich durch sog. Invasine gefördert (Wolf, Rateitschak et al. 2004). Die Polysaccharid-Kapsel dient dem Keim überdies zum Schutz vor Phagozytose, die Cystein-Proteinase Gingipain wiederum spielt bei der Zersetzung von Enzymen der Wirtsabwehr eine entscheidende Rolle (Graves, Jiang et al. 2000). Die Lipopolysaccharide des *P. gingivalis* induzieren die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie z.B. IL-6, IL-8 und TNF- α , dies wiederum verursacht eine parodontale Gewebsdestruktion (Graves, Jiang et al. 2000, Mysak, Podzimek et al. 2014). Gingipaine leisten einen wesentlichen Beitrag zur Entstehung einiger Symptome der Erkrankung und sie begünstigen, z.B. durch unkontrollierte Proteolyse, Ödementstehung oder durch den Abbau von Fibrinogen eine erhöhte Blutungsneigung (Mysak, Podzimek et al. 2014).

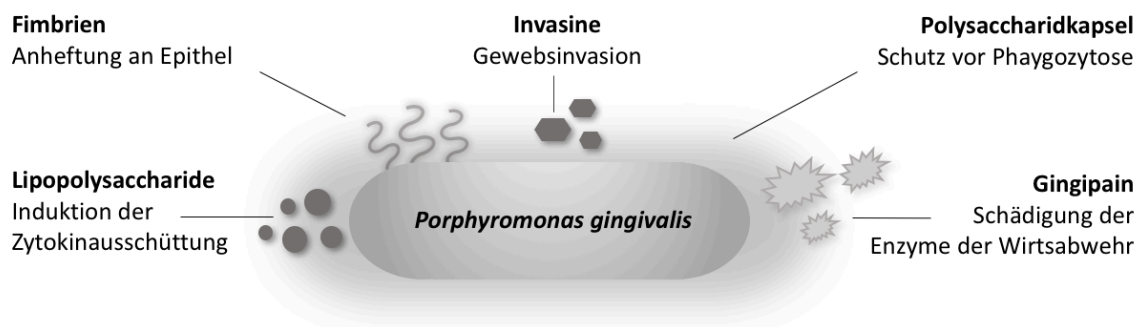


Abb. 3 Virulenzfaktoren des *Porphyromonas gingivalis*
Schematische Übersicht wichtiger Virulenzfaktoren des *P. gingivalis* und ihrer Funktion.

2.1.5. Wichtige Inflammationsmetabolite bei Parodontitis

Zum besseren Verständnis einiger biochemischer Hintergründe sollen hier noch einmal kurz die primären Wirkungen zweier Zytokine bzw. Inflammationsmetabolite erläutert werden, welche in der vorliegenden Dissertation analysiert wurden.

Das erste in dieser Arbeit untersuchte Inflammationsmetabolit ist das multifunktionale Zytokin IL-6, welches hauptsächlich von Makrophagen und Monozyten sezerniert wird (Endler, Marsik et al. 2004, Balaji, Chandrasekaran et al. 2017). In Zellkulturexperimenten wurde bereits nachgewiesen, dass der Parodontitisleitkeim *P. gingivalis* die Gen-Expression und Sekretion von IL-6 steigert (Muluke, Gold et al. 2016). IL-6 kann die Immunantwort, Inflammation und die Akute-Phase-Reaktion regulieren (Mihara, Hashizume et al. 2012). Als Akute-Phase-Reaktion wird hierbei eine unspezifische und systemische Reaktion des Körpers auf Gewebsschäden vielerlei Art bezeichnet, hervorgerufen z.B. durch Infektionen (Bertsch, Triebel et al. 2015). Überdies stimuliert es die Proliferation von Plasmazellen und darüber hinaus die Formation von knochenresorbierenden Osteoklasten bzw. die Induktion des Knochenabbau-fördernden *receptor activator of nuclear factor – κ B ligand* (RANKL, näheres dazu siehe Kapitel 2.2.3). Somit ist IL-6 wahrscheinlich für das vermehrte Vorkommen der Plasmazellen verantwortlich und induziert zudem mitunter die Knochenresorption im Rahmen der fortgeschrittenen parodontalen Läsion (American Academy of Periodontology 1999, Balaji, Chandrasekaran et al. 2017).

TNF- α , das zweite in dieser Dissertation analysierte Zytokin, ist bei parodontaler Infektion ebenfalls ein essentielles Inflammationsmetabolit. Es wird von verschiedenen Zelltypen sezerniert, darunter Makrophagen, Fibrozyten und Monozyten. Seine Freisetzung wird durch bakterielle LPS angeregt. TNF- α zeigt eine ähnliche biologische Aktivität wie IL-6, es stimuliert darüber hinaus MMPs und begünstigt vor allem die Knochenresorption, indem es ebenfalls die Osteoklastogenese und die Induktion von RANKL fördert (American Academy of Periodontology 1999, Kobayashi, Takahashi et al. 2000, Neumann, Muller-Ladner et al. 2014). Osteoklasten – Zellkulturexperimente zeigen, dass die Inkubation unter Zugabe von *P. gingivalis* die Sekretion von TNF- α zur Folge hat. Besonders intensiv wird hierbei TNF- α ausgeschüttet, wenn die Osteoklasten zudem in Palmitinsäure-angereichertem Medium kultiviert werden (Muluke, Gold et al. 2016). Auch in einer murinen Studie konnte bereits nachgewiesen werden, dass eine orale Infektion mit *P. gingivalis* einen Anstieg des systemischen TNF- α Serumlevels provozierte. Die durch zusätzliche Palmitinsäure-reiche Fütterung übergewichtige Versuchsgruppe wies dabei überdies noch höhere TNF- α Serumwerte auf als die normal gefütterte Kontrollgruppe (Alsahli, Kiefhaber et al. 2016).

2.2. Knochenmetabolismus

Wie bereits erwähnt, ist eines der Leitsymptome der etablierten Parodontitis der Knochenabbau. Daher soll im folgenden Kapitel auf grundsätzliche Aspekte, wie den Aufbau und Metabolismus dieses Gewebes u.a. in Hinblick auf die Veränderungen bei Inflammation, eingegangen werden.

2.2.1. Aufbau und Struktur des Knochens

Der Knochen ist ein kompaktes Stützgewebe aus extrazellulärer Matrix, Zellen und Gefäßen. Er erfüllt eine Schutzfunktion für innere Organe und stellt einen essentiellen Teil des Bewegungsapparates dar. Darüber hinaus nimmt er einen bedeutenden Stellenwert im Stoffwechsel ein, da er wichtig ist für die Calciumhomöostase, den Mineralhaushalt und das Säure-Basen-Gleichgewicht (Felsenberg 2001, Hadjidakis and Androulakis 2006).

Die extrazelluläre Matrix ist zu 70 % aus anorganischem Material, hauptsächlich Calciumphosphat, aufgebaut. 30 % bestehen aus organischem Material, v.a. aus Kollagen Typ I und einem geringen Anteil nichtkollagener Proteine wie z.B. Osteokalzin (OC) (Datta, Ng et al. 2008). Dieses und weitere Knochenproteine werden von sog. Osteoblasten (OB) synthetisiert, jenen Zellen, die für den Knochenaufbau verantwortlich sind (Felsenberg 2001). Neben den OB sind Osteoklasten (OK) die zweite wichtige Zellspezies. Sie differenzieren sich aus Makrophagen, resorbieren Knochen und stellen damit im Knochenstoffwechsel die Gegenspieler der OB dar (Felsenberg 2001). Auf die Funktion dieser beiden Zellspezies wird in den nächsten Kapiteln nochmals genauer eingegangen.

Die Knochensubstanz kann in verschiedenen Strukturformen ausgeprägt sein, wobei zwei Arten unterschieden werden können. 80 % des erwachsenen Skelettes besteht aus kortikalem Knochen, welcher dicht und kompakt aufgebaut und zum größten Teil mineralisiert ist. Spongioser Knochen besteht hingegen aus einem trabekulären Netzwerk, ist elastischer, weniger dicht und damit leichter als kortikaler Knochen. Zudem findet dort mehr Knochenumbau statt (Hadjidakis and Androulakis 2006).

2.2.2. Knochenstoffwechsel und klinisch messbare Stoffwechselparameter im Serum

Das Knochengewebe gilt als hochdynamisches Gewebe und ist einem ständigen Umbau unterzogen (Datta, Ng et al. 2008). Dieser Mechanismus wird als Knochenstoffwechsel oder Remodeling bezeichnet. So passt sich die Knochenarchitektur zeitlebens den individuellen Belastungen an (Neumann and Schett 2007, Datta, Ng et al. 2008). Dieser Prozess besteht aus

dem Kreislauf aus Auf- und Abbau und findet in sog. *Bone Remodeling Units* (BRU) statt. Hier wird der Knochen durch OK resorbiert und neuer Knochen durch OB formiert, siehe Abb. 4 (Felsenberg 2001, Datta, Ng et al. 2008). Die einzelnen BRU befinden sich über den Knochen verteilt und agieren zeitlich und räumlich weitestgehend unabhängig voneinander (Felsenberg 2001). Bei einem gesunden Erwachsenen wird ca. 3 % des kortikalen und 25 % des trabekulären Knochens jährlich ersetzt, abhängig von Geschlecht und Alter (Neumann, Muller-Ladner et al. 2014).

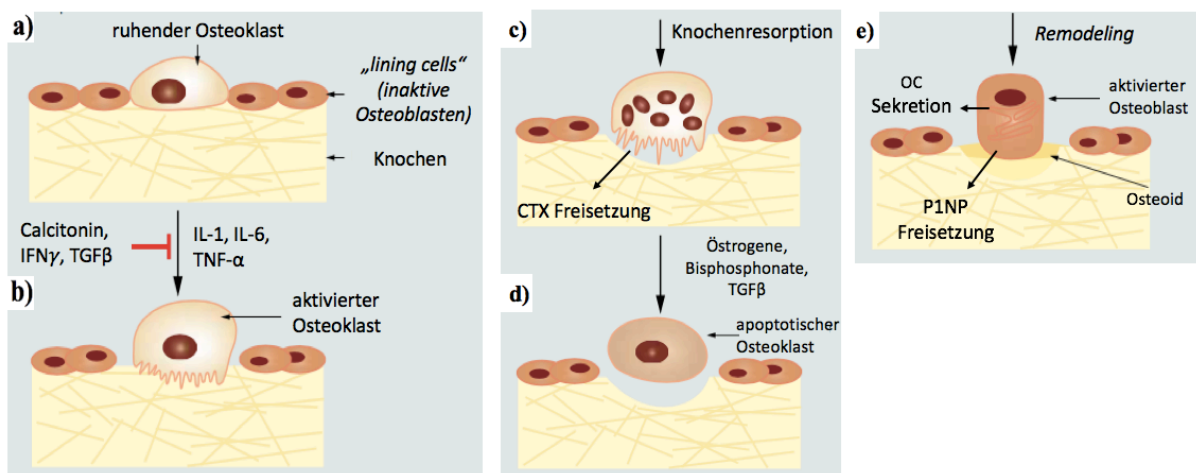


Abb. 4 Schematische Darstellung des Knochenremodelings

Ruhende Osteoklasten können durch verschiedene Faktoren aktiviert und inhibiert werden (a, b). Nach Aktivierung beginnt die Resorption (c), bis der Osteoklast wieder deaktiviert wird (d) und das Remodeling durch aktivierte Osteoblasten beginnt (e). Dieser Prozess findet in einer sog. *Bone remodeling unit* statt.

IFN- γ , Gamma-Interferon; TGF- β , *transforming growth factor*; Abbildung modifiziert nach (Felsenberg 2001).

Das Remodeling läuft in drei Phasen ab: Proliferation, Reifung der extrazellulären Matrix und Mineralisation. Der Übergang von einer in die nächste Phase wird durch verschiedene Signale und Biomarker reguliert. Zu Beginn der Mineralisationsphase liegt z.B. eine erhöhte Expression von OC und Osteopontin vor (Stein, Lian et al. 1990, Boskey, Gadaleta et al. 1998). Da OC als Knochenprotein beim Aufbau bzw. Remodeling von Knochen von OB sezerniert wird und serologisch nachweisbar ist, kann man durch die Bestimmung dieses Parameters die Aktivität des Knochenaufbaus abschätzen (Felsenberg 2001, Neumann and Schett 2007).

Die Aktivierung des Remodelings kann von verschiedenen Stimuli induziert werden. Zu diesen zählen u.a. mechanische Kräfte, Hormone, Zytokine wie IL-1 und 6, TNF- α und andere lokale Faktoren (Felsenberg 2001, Datta, Ng et al. 2008). Nach einem aktivierenden Reiz ziehen sich zu Beginn des Remodeling-Prozesses die auf der Knochenoberfläche

liegenden inaktiven OB, sog. „*lining cells*“, zurück und geben die endostale Oberfläche frei (Felsenberg 2001, Datta, Ng et al. 2008). MMPs lösen die endostale Kollagenmembran auf und die OK werden rekrutiert und aktiviert, siehe Abb. 4 a und b (Datta, Ng et al. 2008). Die aktivierten Zellen fusionieren zu mehrkernigen OK und resorbieren durch Ausschüttung von proteolytischen Enzymen und Salzsäure die Knochensubstanz, siehe Abb. 4 c (Felsenberg 2001, Datta, Ng et al. 2008). Durch diesen Vorgang bilden sich dort sog. Resorptionslakunen. Die osteoklastäre Knochenresorption lässt sich mithilfe des C-terminalen Kollagen-Typ-I-Telopeptids (CTX) darstellen, welches beim Abbau von Kollagen Typ I ins Serum freigesetzt wird und dort gemessen werden kann (Neumann and Schett 2007, Szulc, Naylor et al. 2017). Nach der Resorption und Deaktivierung der OK (Abb. 4 d) werden OB rekrutiert und bilden in der Resorptionslakune neues Osteoid aus Kollagen Typ I. Dadurch wird der entstandene „Defekt“ wieder aufgefüllt, siehe Abb. 4 e (Felsenberg 2001). Während der Kollagensynthese wird von der Kollagenvorstufe Prokollagen am N- und C-terminalen Ende ein Propeptid abgespalten (Felsenberg 2001). Das N-terminale Propeptid des Prokollagen Typ I (P1NP) wird ebenfalls in den Blutkreislauf freigesetzt und kann als Knochenformationsmarker serologisch bestimmt werden (Kucukalic-Selimovic, Valjevac et al. 2013). Zehn Tage nach der Bildung des Kollagengerüsts beginnt die Mineralisierung. Während die Resorption nur wenige Tage in Anspruch nimmt, dauert die Formation des neuen Knochens ca. drei bis sechs Monate (Felsenberg 2001, Datta, Ng et al. 2008). Im jungen, gesunden Erwachsenenalter besteht ein Gleichgewicht zwischen Knochenformation und –resorption, im Alter überwiegt zunehmend die Resorption mit einem Netto-Knochenverlust (Datta, Ng et al. 2008, Neumann, Muller-Ladner et al. 2014).

2.2.3. Regulation des Knochenstoffwechsels durch proinflammatorische Zytokine

Das Remodeling stellt ein sensibles Gleichgewicht dar, welches durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst und gestört werden kann. Entsteht dabei ein Ungleichgewicht, kann dies zu Veränderungen der Knochenstabilität und seiner Funktion führen (Neumann, Muller-Ladner et al. 2014). Vorgänge, die die Knochenumbaurate, Struktur, Dichte oder Geometrie des Knochens oder der Kollagenmatrix betreffen, bestimmen die mechanischen Eigenschaften des Knochens. Störungen dieser Parameter führen zu Erkrankungen des Knochens (Datta, Ng et al. 2008).

Die Regulation des Knochenstoffwechsels ist ein sehr komplexes Geschehen, basierend auf der Interaktion von Osteoklasten und Osteoblasten, die durch molekulare Signalkaskaden

reguliert wird. Proinflammatorische Zytokine können dabei das zelluläre Gleichgewicht beeinflussen. Die Regulationsmechanismen sind vielfältig und umfangreich, daher werden nur einige für die Dissertation relevante Aspekte vorgestellt.

Ein wichtiger Mechanismus ist die Steuerung der Osteoklastogenese und der Resorptionskapazität über den OK-Rezeptor *receptor activator of nuclear factor- κ B* (RANK). Sein Ligand RANKL, sowie der RANKL Antagonist Osteoprotegerin (OPG), werden von OB sezerniert und können die Aktivität der OK regulieren (Boyle, Simonet et al. 2003, Senba, Kawai et al. 2012, Walsh and Choi 2014, Warren, Zou et al. 2015). Das OPG/RANKL System ist damit ein entscheidender Signalweg zur Koordination des Knochenstoffwechsels und ist in Abb. 5 schematisch dargestellt.

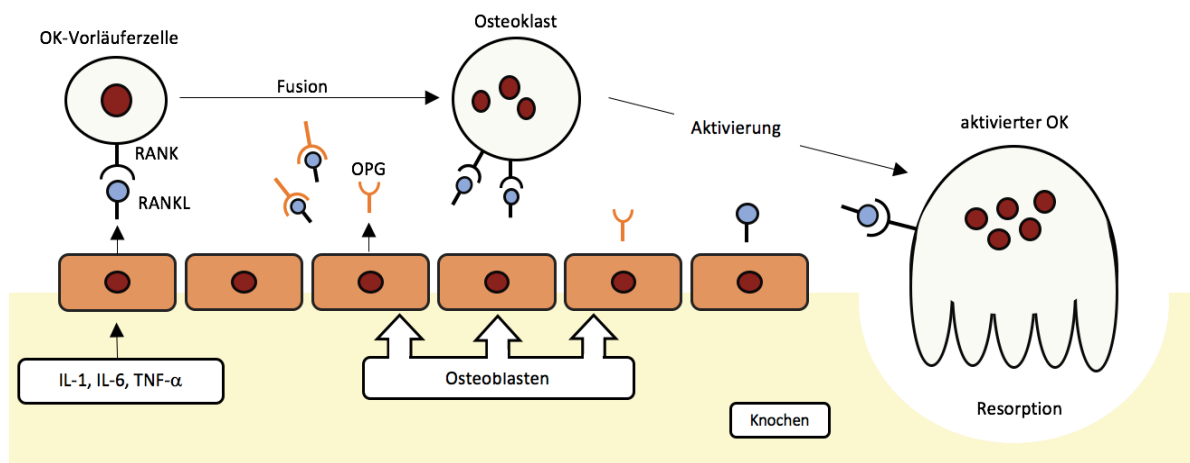


Abb. 5 Molekulare Mechanismen des OPG/RANKL Systems

Osteoblasten (OB) sezernieren RANKL, welches die Osteoklasten (OK)-Vorläuferzellen zur Differenzierung und Fusion anregen. RANKL aktiviert durch die Bindung an seinen Rezeptor RANK zudem die OK, welche daraufhin Knochen resorbieren. Ebenfalls von OB sezerniertes OPG inhibiert RANKL. Verschiedene Faktoren aktivieren die RANKL Sekretion der OB. Abbildung modifiziert nach (Senba, Kawai et al. 2012).

TNF- α kann die RANKL-Expression in OB induzieren und so bei inflammatorischen Prozessen den Knochenabbau fördern (Neumann, Muller-Ladner et al. 2014, Luo, Li et al. 2018). In klinischen Human-Untersuchungen, in denen TNF- α medikamentös gehemmt wurde, zeigte sich vermehrt Knochenformation und verringerte Resorption (Allali, Breban et al. 2003, Lange, Teichmann et al. 2005, Dischereit, Tarner et al. 2013). RANKL und IL-1 verlängern darüber hinaus die Überlebenszeit eines OK (Boyle, Simonet et al. 2003). Somit fördern vor allem chronisch-entzündliche Erkrankungen mit einer kontinuierlichen Zytokinausschüttung die Störung der Knochenhomöostase (Neumann, Muller-Ladner et al. 2014). Auch bei parodontalen Infektionen ist die Knochenhomöostase gestört, was zum Abbau des Alveolarknochens führen kann (Wu, Dong et al. 2016). Neben TNF- α steht dabei

auch IL-6 in direktem Zusammenhang zu inflammationsinduziertem und Parodontitis-assoziiertem Knochenabbau (Pischon, Heng et al. 2007, Pacios, Kang et al. 2012, Neumann, Muller-Ladner et al. 2014). Werden OK beispielsweise durch proinflammatorische Zytokine (z.B. IL-1, IL-6 oder TNF- α) zu stark aktiviert oder ungenügend schnell inaktiviert bzw. die Osteoklastogenese gefördert, überwiegt auf Grund der schnellen Resorption und der verhältnismäßig langsamen Formation letzten Endes der Knochenabbau (Neumann, Muller-Ladner et al. 2014). Als Inhibitoren der OK gelten z.B. Calcitonin, Gamma-Interferon (IFN- γ) und der *transforming growth factor* (TGF)- β . Andere Stoffe können die Apoptose der OK stimulieren, dies geschieht z.B. durch Östrogene oder Bisphosphonate, siehe Abb. 4 d (Felsenberg 2001).

Ein weiterer Störfaktor, der sich auf den Knochenstoffwechsel auswirken kann, stellen vermutlich gesättigte Fettsäuren dar (Drosatos-Tampakaki, Drosatos et al. 2014). Ihr Einfluss besteht wahrscheinlich in der Förderung der Osteoklastenreifung, Aktivierung der OK sowie Schädigung der Osteoblastenfunktion (Harasymowicz, Dicks et al. 2019). Hierbei steht besonders die gesättigte Palmitinsäure, bzw. die daraus synthetisierten Ceramide, im starken Verdacht, eine Dysfunktion der Osteoblasten zu vermitteln und so zur Störung der Knochenhomöostase beizutragen (Alsahli, Kiefhaber et al. 2016).

2.3. Fettstoffwechsel

Neben Kohlenhydraten und Proteinen sind Fette die dritte Gruppe der Makronährstoffe, die in der Ernährung enthalten und für unsere tägliche Energiezufuhr essentiell sind. Sie dienen als Energielieferanten für den Aufbau der Körpersubstanz und der Aktivität von Stoffwechselprozessen. Besonders Kohlenhydrate und Fette sind dabei die wichtigsten Energieträger (Haller, Rimbach et al. 2013).

2.3.1. Struktur und Nomenklatur der gesättigten und ungesättigten Fettsäuren

Der umgangssprachlich als „Fett“ bezeichnete Makronährstoff wird biochemisch als Trigl(acyl)glicerid (TAG) definiert. Chemisch betrachtet handelt es sich um den dreiwertigen Alkohol Glycerol (Glycerin), welcher mit drei Fettsäuren (FS) verestert ist. FS sind im Körper größtenteils in Form von Triglyceriden als Reservefett in Fettzellen oder als Membranlipide gespeichert (Christen, Jaussi et al. 2016). FS sind unverzweigte Monocarbonsäuren und stellen im Körper die Transportform dar, welche chemische Energie von den Fettzellen in andere Organe oder Muskeln transportiert. Die FS können nach ihrer Anzahl an Doppelbindungen eingeteilt werden. In Organismen sind FS aus 16 bzw. 18 Kohlenstoff

(C)-Atome am häufigsten (siehe Tab. 2). FS ohne Doppelbindung werden als gesättigte FS deklariert (SFA, *saturated fatty acid*). Weisen sie eine oder mehrere Doppelbindungen auf, werden sie als einfach ungesättigt (MUFA, *monounsaturated fatty acid*) oder mehrfach ungesättigt (PUFA, *polyunsaturade fatty acid*) bezeichnet. Bei der Nomenklatur der FS bezieht sich die Zahl vor dem Doppelpunkt auf die Anzahl der C-Atome, die Zahl dahinter auf die Anzahl der Doppelbindungen (Christen, Jaussi et al. 2016). Darüber hinaus kann unterschieden werden, an welcher Stelle der Kohlenstoffkette sich die Doppelbindung befindet. Hierbei unterscheidet man v.a. zwischen zwei wichtigen Gruppen, den ω -3 und ω -6 FS. Die Unterscheidung richtet sich danach, wo die erste Doppelbindung der Kette zu finden ist, beginnt man am Methylende (hinteres bzw. ω -Ende) der Fettsäure zu zählen (Horn 2009). Bei natürlichen TAGs ist das Glycerol meistens mit verschiedenen FS verestert. Es können dabei sowohl gesättigte als auch ungesättigte FS gleichzeitig enthalten sein, wobei insgesamt die ungesättigten überwiegen (Christen, Jaussi et al. 2016). Palmitinsäure (PA, *palmitic acid*) und Ölsäure (OA, *oleic acid*) sind dabei die häufigsten gesättigten bzw. ungesättigten Fettsäuren in der westlichen Ernährung (Baylin, Kabagambe et al. 2002).

Tab. 2 Übersicht über die am häufigsten vorkommenden Fettsäuren und ihre Eigenschaften

Fettsäure	Anzahl der C-Atome und Doppelbindung	ω -Einteilung	Masseanteil (%) im Neutralfett der menschlichen Leber	Einteilung
Palmitinsäure	16:0	-	24	SFA
Stearinsäure	18:0	-	4	SFA
Ölsäure	18:1	ω -9	43	MUFA
Linolsäure	18:2	ω -6	20	PUFA

Modifiziert nach (Christen, Jaussi et al. 2016) und (Horn 2009)

Es finden sich eine Vielzahl an Nahrungsmitteln, in denen diese zwei Fettsäuren vorkommen (siehe Abb. 6). Palmitinsäure ist die häufigste vorkommende gesättigte Fettsäure in tierischen Fetten und Pflanzenölen. Sie findet sich z.B. auch in großen Anteilen (ca. 44 %) in raffiniertem Palmöl, welches als Geschmacksträger wiederum ein besonders beliebter Inhaltsstoff vieler industriell hergestellter Lebensmittel ist. So enthalten diverse Nahrungsmittel wie Backwaren, Süßigkeiten, Schokolade, Chips, Fertiggerichte oder Tiefkühlprodukte unter anderem auch viel Palmitinsäure (Mancini, Imperlini et al. 2015).

Ölsäure ist ebenfalls in vielen tierischen und v.a. pflanzlichen Fetten bzw. Ölen enthalten. Sie ist dabei die häufigste ungesättigte Fettsäure in Lebensmitteln. Olivenöl besteht beispielsweise zu ca. 55-83 % aus der einfach ungesättigten Ölsäure (Tejada, Pinya et al. 2017). In vielen andern pflanzlichen Ölen wie z.B. Raps- oder Erdnussöl findet sich ebenfalls ein hoher Anteil Ölsäure, siehe Abb. 6 (Rauf, Jamil et al. 2017, Thandapilly, Raj et al. 2017, Aung, Bjertness et al. 2018). Darüber hinaus beinhalten auch tierische Produkte wie Eier und Milch Ölsäure (Welter, Martins et al. 2016, Juhaimi, Uslu et al. 2017).

Aufgrund der weiten Verbreitung von Palmitin- und Ölsäure in vielerlei Lebensmitteln wurden in der vorliegenden Studie diese zwei FS zur Anreicherung des Futters ausgewählt.

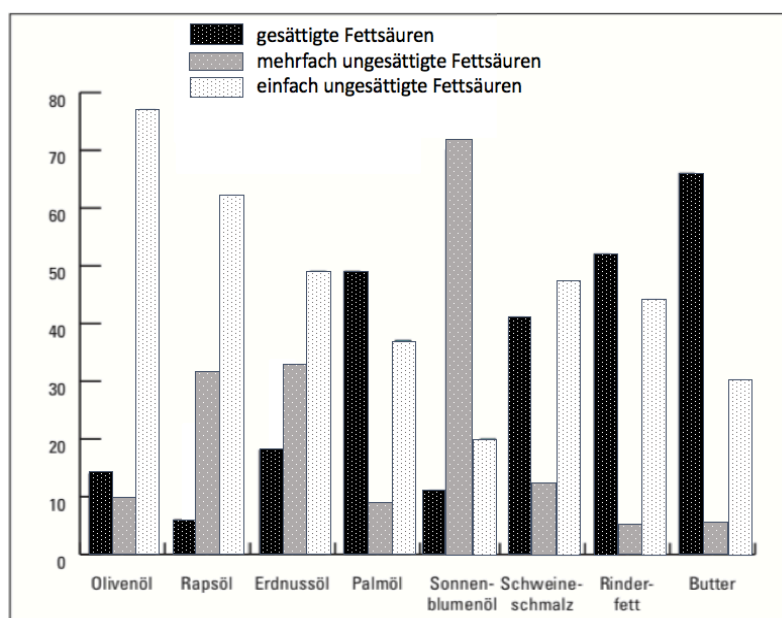


Abb. 6 Anteil verschiedener Fettsäuren in herkömmlichen Lebensmitteln

Graphische Darstellung der Fettsäuregehalte verschiedener Lebensmittel in Prozent. Palmitinsäure stellt dabei den Hauptanteil der gesättigten Fettsäuren, Ölsäure den der ungesättigten dar. Modifiziert nach (Keller 2008)

2.3.2. Systemische Auswirkungen von Fettsäuren

Zwar spielen Fette bzw. FS in der Ernährung eine überaus wichtige Rolle, z.B. als hochkonzentrierte Energielieferanten, jedoch ist ein übermäßiger Konsum dabei nicht empfehlenswert. Verschiedene Fachgesellschaften weltweit empfehlen für gesunde Erwachsene eine Deckung des Energiebedarfs zu einem Anteil von 20 – 35 % durch Fett (Vannice and Rasmussen 2014). Wird diese Empfehlung missachtet, kann die Aufnahme zu großer Mengen Fett negative Auswirkungen auf die Gesundheit haben. Nachfolgend sollen

vor allem die Effekte auf die Inflammation und den Knochenmetabolismus im Fokus stehen, auch wenn sie vielfältig sind und den ganzen Organismus betreffen.

In einer Studie von Li und Zhou (2017) wurde bereits in einem Mausmodell gezeigt, dass hochfetthaltige Diäten die systemische Inflammation verstärken und u.a. erhöhte Serumlevel IL-6 und TNF- α provozieren (Li, Zhou et al. 2017). Auch auf den Knochenstoffwechsel kann die Auswirkung kritisch sein. Im Wachstum befindliche Mäuse, welche mit hochfetthaltiger Diät gefüttert wurden, weisen z.B. einen geringeren Knochenmineralgehalt und –dichte auf (Wang, Buckendahl et al. 2018).

Dabei ist allerdings nicht nur der Fettgehalt insgesamt wichtig, sondern auch, welche Art Fett aufgenommen wird. In der Literatur werden dabei v.a. diverse negative Einflüsse gesättigter Fette auf die Gesundheit diskutiert, während ungesättigte FS eher als gesundheitsfördernd gelten. Im Folgenden soll daher ein Einblick in die unterschiedlichen Auswirkungen der gesättigten und ungesättigten FS gegeben werden.

2.3.3. Auswirkung von Palmitinsäure auf Inflammation und Knochenstoffwechsel

Die gesundheitsgefährdenden Effekte gesättigter Fettsäuren stellen sich als vielfältig dar. Sie können beispielsweise Insulinresistenz auslösen oder Arteriosklerose fördern, um nur zwei von diversen allgemeinmedizinischen Effekten zu nennen. Darüber hinaus induzieren gesättigte Fettsäuren auch die Expression proinflammatorischer Gene in Makrophagen (Lee, Sohn et al. 2001, Diaz, Fuentes-Mera et al. 2015, Perdomo, Beneit et al. 2015). Da sich, wie bereits erwähnt, Osteoklasten aus Makrophagen differenzieren und durch proinflammatorische Zytokine zur Differenzierung angeregt werden, hat dies schlussendlich auch einen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel (Zeng and Wan 2016, Yokota 2017).

Speziell die in der vorliegenden Studie verwendete Palmitinsäure ruft in Zellkultur-experimenten darüber hinaus eine erhöhte Expression proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β , IL-6 und TNF- α hervor (Varma, Yao-Borengasser et al. 2009, Sadeghi, Seyyed Ebrahimi et al. 2017). Im Tierexperiment konnte bereits nachgewiesen werden, dass chronische Fütterung mit Palmitinsäure-haltigem Hochfettfutter Übergewicht und den Anstieg der PA-Serumlipidlevel zur Folge hat (Lu, Cheng et al. 2015, Muluke, Gold et al. 2016). Bei der Kultivierung von OK-Vorläuferzellen unter hyperlipidämischen PA-Konditionen, angelehnt an die besagten Serumverhältnisse bei Übergewicht, zeigte sich überdies eine verstärkte Osteoklastogenese und Resorptionsaktivität der Osteoklasten. Der Wirkmechanismus steht

vermutlich im Zusammenhang mit vermehrter Expression von proinflammatorischem TNF- α und RANKL, siehe Kapitel 2.2.3 (Drosatos-Tampakaki, Drosatos et al. 2014).

Auch *in vivo* bestätigen sich diese Ergebnisse. So provoziert eine PA-basierte Hochfettdiät bei übergewichtigen bzw. adipösen Mäusen eine verstärkte TNF- α Produktion (Alsahli, Kiefhaber et al. 2016) und eine Verstärkung der Osteoklastenformation und -aktivität, was wiederum zu verstärktem Knochenabbau führt (Drosatos-Tampakaki, Drosatos et al. 2014). Die molekularen Ursachen für die Auswirkungen der Palmitinsäure auf den Knochenstoffwechsel können verschiedene sein. Zum einen moduliert die durch Palmitinsäure hervorgerufene Inflammation die Knochenhomöostase (siehe 2.2.2 und 2.2.3), zum anderen hat Palmitinsäure vermutlich auch einen direkten lipotoxischen Effekt. Lipotoxizität wird durch die Akkumulation gesättigter Fettsäuren bzw. ihrer Metabolite (z.B. Ceramide, Diacylglycerol) im Inneren der Zellen verursacht (DeFronzo 2010, Alsahli, Kiefhaber et al. 2016). Palmitinsäure ist dabei ein Hauptmetabolit für die Synthese von Ceramiden, welche wiederum mit Apoptose assoziiert sind (Lu, Mu et al. 2003, Morales, Lee et al. 2007, Martinez, Torres et al. 2015, Alsahli, Kiefhaber et al. 2016). Es gibt Hinweise darauf, dass vor allem jene Ceramide, deren Bildung durch Palmitinsäure gefördert wird, eine Osteoblastendysfunktion auslösen (Alsahli, Kiefhaber et al. 2016).

2.3.4. Auswirkung von Ölsäure auf Inflammation und Knochenstoffwechsel

Die ungesättigte Ölsäure wirkt im Gegensatz zu Palmitinsäure in vielerlei Hinsicht eher gesundheitsfördernd. Während z.B. Palmitinsäure wie erwähnt über einen TNF- α vermittelten Signalweg Arteriosklerose fördert, hier stellvertretend genannt für einen systemischen Inflammationsvorgang, zeigte Ölsäure in einer Humanstudie sogar protektive Eigenschaften (Perdomo, Beneit et al. 2015). Auch andere Inflammationsgeschehnisse betreffend, zeigt Ölsäure eine antiinflammatorische Wirkung, so z.B. bei der TNF- α vermittelten Inhibition der Insulinproduktion (Vassiliou, Gonzalez et al. 2009). Auch auf den Knochenstoffwechsel hat Ölsäure eine positive Wirkung im Vergleich zu Palmitinsäure. Mit Ölsäure kultivierte und mit *P. gingivalis* inokulierte Osteoklasten zeigen im Gegensatz zur Kultivierung mit Palmitinsäure eine geringere Genexpression von TNF- α und IL-6 (Muluke, Gold et al. 2016). Auch die Osteoklastogenese förderte Ölsäure im Gegensatz zu Palmitinsäure in Zellkulturen nicht. Sie mildert bei kombinierter Kultivierung sogar den lipotoxischen Effekt der Palmitinsäure. Die fehlenden negativen Auswirkungen von Ölsäure könnten auf die Inhibition

der proinflammatorischen Antwort durch vermehrte Bildung von Triglyceride durch Ölsäure zurückzuführen sein (Drosatos-Tampakaki, Drosatos et al. 2014).

In dem Mausmodell von Muluke et al. (2016), an welchen der Versuchsaufbau der vorliegenden Studie anknüpft, konnte der protektive Effekt von Ölsäure auf den Knochenstoffwechsel ebenfalls nachgewiesen werden. Die Tiere wurden 16 Wochen mit einer Palmitinsäure- oder Ölsäure-haltigen Diät gefüttert. Eine Infektion mit *P. gingivalis* induzierte bei PA-haltiger Diät einen signifikant stärkeren Knochenabbau als bei OA-haltiger Diät (Muluke, Gold et al. 2016). Ölsäure hat nicht nur in murinen Studien im Vergleich zu Palmitinsäure bei parodontaler Infektion einen günstigeren Effekt auf den Knochenabbau, auch in Humanstudien konnte der positive Effekt auf den Knochenstoffwechsel nachgewiesen werden. Regelmäßig aufgenommene Ölsäure fördert über verschiedene Stoffwechselwege auch die Knochenformation bzw. wirkt sich positiv auf den Knochenstoffwechsel aus (Fernandez-Real, Bullo et al. 2012, Fonolla-Joya, Reyes-Garcia et al. 2016).

Neben den einfach ungesättigten FS gelten auch mehrfach ungesättigte ω -3 FS als gesundheitsfördernd, da sie zur Vorbeugung kardiovaskulärer Krankheiten beitragen und antiinflammatorisch wirken (Horn 2009, Calder 2015). Hierbei sind besonders die marinen, d.h. aus Fischölen und Meeresfrüchten gewonnenen, ω -3 FS Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) in der Lage, verschiedene Inflammationsvorgänge zu inhibieren (Faber, Berkhout et al. 2011, Browning, Walker et al. 2012, Calder 2015). Aus diesem Grund soll vor allem der Verzehr gesättigter Fette begrenzt und die Aufnahme von ω -3 mehrfach ungesättigten FS gefördert werden (Vannice and Rasmussen 2014). Da allerdings Ölsäure und Palmitinsäure die am weitest verbreiteten Fettsäuren in der westlichen Ernährung darstellen, liegt der Fokus dieser Dissertation auf diesen zwei ausgewählten Fettsäuren und nicht auf den mehrfach ungesättigten Fettsäuren.

2.3.5. Übergewicht als Ursache systemischer Inflammation

Bei der Interpretation der Studien zu hochfetthaltigen Diäten ist zu beachten, dass im Zuge der Untersuchungen bei *in vivo* Modellen häufig Diäten mit sehr hohem Gesamtfettgehalt (teils > 40 %) verwendet werden (Luo, Miranda-Garcia et al. 2016, Li, Zhou et al. 2017). Die Diäten sind damit nicht nur hochfetthaltig, sondern auch meist kalorienreicher als die Kontrolldiäten. Da Übergewicht durch einen Energieüberschuss hervorgerufen wird (Hill, Wyatt et al. 2003, Strasser, Spreitzer et al. 2007), sind diese Tiere durch die hochfetthaltigen Diäten häufig auch deutlich schwerer als die Kontrollgruppe und in vielen Studien sogar

übergewichtig bis adipös (siehe Kapitel 2.3.6.). Mittlerweile ist jedoch bekannt, dass Fettgewebe nicht nur ein passiver Speicherort für überflüssige Energie ist, sondern auch als eine Art stoffwechselaktives Organ angesehen werden kann, das proinflammatorische Zytokine und viele weitere biologisch aktive Substanzen sezernieren kann (Boden 2011). So ist es nicht verwunderlich, dass Übergewicht allein schon mit einer niedrig-gradigen chronischen Inflammationssituation vergesellschaftet ist (Cox, West et al. 2015, Engin 2017) und darüber hinaus chronische Krankheiten wie Hypertonie oder Diabetes begünstigt (Franks and McCarthy 2016).

Diese chronische Inflammation wird über verschiedene Signalwege vermittelt. Zum einen kommt es vermutlich zur Makrophagen-vermittelten Aktivierung des angeborenen Immunsystems (Engin 2017). Die Makrophagen akkumulieren bei Übergewicht vor allem im adipösen Fettgewebe und nehmen einen proinflammatorischen Phänotyp an (sog. M1 Makrophagen), woraufhin sie vermehrt Zytokine wie TNF- α sezernieren (Glass and Olefsky 2012, Engin 2017).

Zum anderen kommt es durch Übergewicht zu erhöhten Plasmawerten freier Fettsäuren (FFS) (Boden 2011, Lu, Cheng et al. 2015, Muluke, Gold et al. 2016). Dies wird durch zwei Mechanismen bedingt. Einerseits schüttet das durch Übergewicht vergrößerte und damit gestresste Fettgewebe bzw. Adipozyten vermehrt FFS aus, welche beim Abbau von gespeicherten TAG ins Blut abgegeben werden (Oh, Sul et al. 2010, Boden 2011). Andererseits ist wahrscheinlich die Reduktion der FFS durch Veresterung bei Übergewicht reduziert (Nestel, Ishikawa et al. 1978, Boden 2011). Die FFS spielen eine große Rolle als Signalmolekül, da sie proinflammatorische Signalwege in Immunzellen aktivieren können (Oh, Sul et al. 2010). Durch das proinflammatorische Zytokin TNF- α wird wiederum die Lipolyse stimuliert, infolge dessen die FFS im Blut weiter ansteigen (Nguyen, Favelyukis et al. 2007). Daraufhin entsteht ein Aufschaukelungsprozess aus FFS und TNF- α zwischen Adipozyten und Makrophagen (Engin 2017). Darüber hinaus inhibieren FFS die antilipolytische Wirkung von Insulin, sobald ihr Plasmalevel erhöht ist (Boden 2011). Dies fördert den entstandenen Prozess zusätzlich.

Die Hyperlipidämie kann zudem als weiteres Symptom auch vermehrte Knochenresorption und verminderte Knochenformation hervorrufen (Parhami, Tintut et al. 2001, Tintut, Morony et al. 2004). Auch die Körperfettmasse stellt einen Einflussfaktor dar, welcher sich auf den Knochenstoffwechsel auswirkt. Sie wirkt sich negativ auf die Knochenmasse aus (Hsu, Venners et al. 2006). Außerdem korreliert sie negativ mit der Knochenmineraldichte. Vor allem die Menge an abdominellem Fett verringerte in verschiedenen Humanstudien die

Mineraldichte des Knochens (Bhupathiraju, Dawson-Hughes et al. 2011, Kim, Choi et al. 2012).

Aus diesem Grund ist es in vielen Fällen schwer zu differenzieren, ob die beobachteten Auswirkungen der Diät speziell auf den direkt mit der Nahrung aufgenommenen hohen Fettsäuregehalt zurückzuführen sind oder auf das dadurch provozierte Übergewicht mit seinen Folgen. Im folgenden Kapitel soll ergänzend dazu kurz auf die Einteilung bzw. Definition von Übergewicht und Adipositas eingegangen werden.

2.3.6. Definition von Übergewicht und Adipositas

Übergewicht wird durch Indices wie z.B. den Body-Mass-Index (BMI) definiert. Er gibt das Verhältnis von Gewicht zu Körpergröße in kg/m^2 an (Romero-Corral, Somers et al. 2008). Laut WHO gelten dabei erwachsene Personen ab einem BMI von $> 25 \text{ (kg/m}^2\text{)}$ als übergewichtig und ab $> 30 \text{ (kg/m}^2\text{)}$ als adipös (World Health Organization 2000). Die Prävalenz von Übergewicht und Adipositas ist steigend, ca. ein Viertel der Bevölkerung ist bereits adipös, siehe Tab.3 (Mensink, Schienkiewitz et al. 2013).

Weltweit sind ca. 670 Millionen Menschen adipös, hinzu kommen ca. 1,3 Milliarden übergewichtige Erwachsene (N. C. D. Risk Factor Collaboration 2017). Diese Daten verdeutlichen die Aktualität der Problematik.

Tab. 3 Prozentualer Anteil übergewichtiger bzw. adipöser Frauen und Männer in Deutschland

Geschlecht (Alter in Jahren)	Übergewicht ($\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$)	Adipositas ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$)
Frauen (18-79)	53,0 %	23,9 %
Männer (18-79)	67,1 %	23,3 %

Daten aus (Mensink, Schienkiewitz et al. 2013)

Eine vergleichbare Kategorisierung existiert bei Mäusen bislang nicht, jedoch ist in der Literatur ca. $32 \text{ g} \pm 2,5 \text{ g}$ für 20 Wochen alte C57BL/6J Mäuse als Normalgewicht angegeben. Ab ca. 40 g gelten die Tiere als adipös. (Drosatos-Tampakaki, Drosatos et al. 2014, Li, Lu et al. 2015, Haenisch, Treuting et al. 2018, Wilson, Deasy et al. 2018).

3. Ziele der Arbeit

Aufgrund der Prekarität und Aktualität des Trends hin zu vermehrtem Übergewicht und Verzehr fettsäurehaltiger Nahrung, beschäftigt sich diese Dissertation mit den Einflüssen fettsäureangereicherter Ernährung auf die parodontale Infektion. Derzeit findet man nur wenige Studien zu den Auswirkungen von Palmitinsäure bzw. Ölsäure, den häufigsten gesättigten bzw. ungesättigten FS in der westlichen Ernährung, auf den Knochenstoffwechsel und die systemische Inflammationssituation bei parodontaler Infektion, welche gezielt normalgewichtige Individuen untersuchen. Es gibt hingegen eine Vielzahl Studien, die Auswirkungen der Fettsäuren bei Übergewicht bzw. Adipositas darstellen. Da Übergewicht jedoch selbst schon einen starken Einfluss auf das parodontale Entzündungsgeschehen hat, liegt der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit nun auf den isolierten Auswirkungen der Fettsäuren auf die parodontale Infektion und wird separiert von dem Faktor Übergewicht bzw. Adipositas untersucht.

Die Grundlage dieser Dissertation ist eine murine Studie mit fettsäureangereicherter Nahrung bei Normalgewicht. Um die Auswirkungen der fettsäureangereicherten Ernährung bei Übergewicht möglichst gut von jenen bei Normalgewicht differenzieren zu können, ist die dieser Arbeit zugrundeliegende Studie weitestgehend identisch zu einer vorangegangenen Studie von Muluke et al. aufgebaut (Muluke, Gold et al. 2016). Muluke et al. (2016) untersuchten die Einflüsse von PA- bzw. OA-angereicherte Ernährung bei Induktion einer Parodontitis mit *P. gingivalis* auf übergewichtige C57BL/6 Mäuse. Bei Adipositas war die systemische Inflammation bei der Ernährung mit PA-Diät signifikant stärker ausgeprägt, als bei der Ernährung mit einer isokalorischen OA-Diät oder einer normalen Ernährung. Das Knochenremodeling war ebenfalls bei PA-Diät signifikant reduziert im Gegensatz zu OA- oder Kontrolldiät. Nach Infektion mit *P. gingivalis* war bei vorherrschender Adipositas der alveolare Knochenverlust und das systemische TNF- α Level bei der Ernährung mit PA-Diät ebenfalls stärker ausgeprägt als bei OA- oder Kontrolldiät. Der Anstieg des TNF- α Serumspiegels korrelierte dabei negativ mit der Reduktion der Knochenremodeling Marker im Serum (Muluke, Gold et al. 2016).

Inwiefern sich diese Effekte auch bei Normalgewicht ausprägen und welcher Teil der Auswirkungen tatsächlich auf die Palmitinsäure bzw. Ölsäure zurückzuführen ist, soll in dieser weiterführenden Studie geklärt werden. In dieser Studie erhalten alle Gruppen isokalorisches Futter, welches sich nur im Fettsäureprofil unterscheidet. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei, wie bei Muluke et al. (2016), auf den Veränderungen im Knochenstoffwechsel und der systemischen Inflammation, die sich im Zusammenhang mit

einer *P. gingivalis* induzierten parodontalen Infektion zeigen. Darüber hinaus sollte der sich bei Muluke et al. (2016) abzeichnende protektive Effekt der Ölsäure näher untersucht werden, indem eine Versuchsgruppe einen Diätenwechsel von PA- auf OA-Diät erhält. Ob allein der Verzehr Palmitinsäure-reicher Nahrung bei Normalgewicht einen schädlichen Einfluss auf das Entzündungsgeschehen und den Knochenstoffwechsel nach parodontaler Infektion mit *P. gingivalis* hat und ob beispielsweise die Ölsäure einen sinnvollen Ersatz darstellen würde, gilt es herauszufinden.

Das Ziel dieser Dissertation ist es, die isolierten Einflüsse fettsäureangereicherter Ernährung bei Normalgewicht darzustellen und sie differenziert im Vergleich zu den Auswirkungen bei Adipositas zu analysieren.

In dieser Arbeit soll so eine Antwort auf folgende Fragen gefunden werden:

1. Welchen Einfluss haben Palmitin- bzw. Ölsäure auf die systemische Inflammation bei Normalgewicht?
2. Welchen Einfluss haben Palmitin- bzw. Ölsäure auf den systemischen Knochenmetabolismus bei Normalgewicht?
3. Verändert sich nach parodontaler Infektion mit *P. gingivalis* die systemische Inflammationssituation bzw. der systemische Knochenmetabolismus in Abhängigkeit von der Ernährung?
4. Wie unterscheiden sich die Auswirkungen verschiedener Ernährungen bei Normalgewicht im Vergleich zu Adipositas?
5. Kann ein Ernährungswechsel von Palmitin- auf Ölsäure-angereicherte Ernährung die eventuell durch gesättigte Fettsäuren entstandenen Schäden verringern?

4. Material und Methoden

4.1. Geräte

<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>
Absorptionsreader Infinite M Nano	Tecan
BRAND™ Reagenzien-Reservoirs BrandTech™	Fisher Scientific
Centrifuge 5417R	Eppendorf
Glasgefäße	Schott
i.contol 2.0 Software	Tecan
Integral Wasseraufbereitungssystem	Milli-Q®
Mehrkanalpipette, Transferpette® S-12 einstellbar von 20-200 µl	BrandTech
Mikrozentrifuge, MiniStar silverline	VWR
Pipetten, Eppendorf Research plus einstellbar von 0,1-2,5 µl, 2-20 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl	Eppendorf
Sterilbank, Hera safe	Hereaus
Trockenschrank	Memmert
Vortexer TopMix FB15013	Fisher Scientific

4.2. Verbrauchsmaterialien

<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>
Biosphere® Filter Tips Low Retention 2-200ul	Sarstedt
Biosphere® Quality Pipette Tips Low Retention 2-200 µl	Sarstedt
Einwegskalpelle Dahlhausen präzisa No. 11	Dahlhausen
Sterile Knopfkanüle aus Kunststoff	ReWa
Omnifix®-F Solo 1 ml Luer-Lock Feindosierungsspritzen	Braun
Pipettenspitze 1000µl, 2-200µl	Sarstedt
Pipettenspitze 10µl, farblos	Sarstedt
Reagiergefäß 1,5ml	Sarstedt
Sterican® Gr. 17, G 24 x 1" / ø 0,55 x 25 mm	Braun

4.3. Chemikalien

<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>
Bidestilliertes Wasser	
DPBS(1x), steril	gibco
Eis	

4.4. Reagenziensysteme

<i>Bezeichnung</i>	<i>Hersteller</i>
Mouse C Terminal Telopeptide of Type I Collagen (CTX) ELISA Kit; MBS9901663	MyBioSource
Mouse Osteocalcin (OC) ELISA Kit; MBS454912	MyBioSource
Mouse PINP (Procollagen Type I N-Terminal Propeptide) ELISA Kit; MBS2500076	MyBioSource
Quantikine® ELISA SixPak Mouse IL-6; M6000B	R&D Systems
Quantikine® ELISA SixPak Mouse TNF-alpha; SMTA00B	R&D Systems

4.5. Tiere und Studiendesign

4.5.1. Stellungnahme zur Ethik

Der unten genannte Tierversuch wurde gemäß den Regelungen des deutschen Tierschutzgesetzes durchgeführt. Für die Durchführung der Versuche lag eine Genehmigung durch das Thüringer Landesamt für Verbraucherschutz unter dem Geschäftszeichen UKJ-17-036 vor.

4.5.2. Allgemeine Haltungsbedingungen

Der Tierversuch wurde unter S2-Bedingungen in der Tierversuchseinheit 2 des Tierhauses 5 (Universitätsklinikum Jena) durchgeführt. Es wurden männliche, vier Wochen alte C57BL/6J Mäuse (Service-Einheit Kleinnager, Jena, Deutschland) unter spezifisch pathogenfreien (SPF) Bedingungen mit einem 14/10h Hell-Dunkel Rhythmus, bei 21 ± 2 °C Temperatur und 55 ± 10 % Luftfeuchtigkeit, mit Futter und Wasser *ad libitum* in Gruppen von je 3 Tieren gehalten. Jeder Käfig enthielt vergleichbares Enrichment.

4.5.3. Tierversuchsaufbau und Gruppeneinteilung

Insgesamt 108 Versuchstiere wurden zu Beginn der Studie randomisiert in 5 Gruppen geteilt und über einen Zeitraum von acht bzw. 16 Wochen mit verschiedenen Diäten gefüttert (siehe Abb. 7). Alle Diäten waren nahezu isokalorisch aufgebaut. Die Kontrolldiät beinhaltete nur minimal weniger Kalorien als die Spezialdiäten, welche exakt isokalorisch zueinander waren.

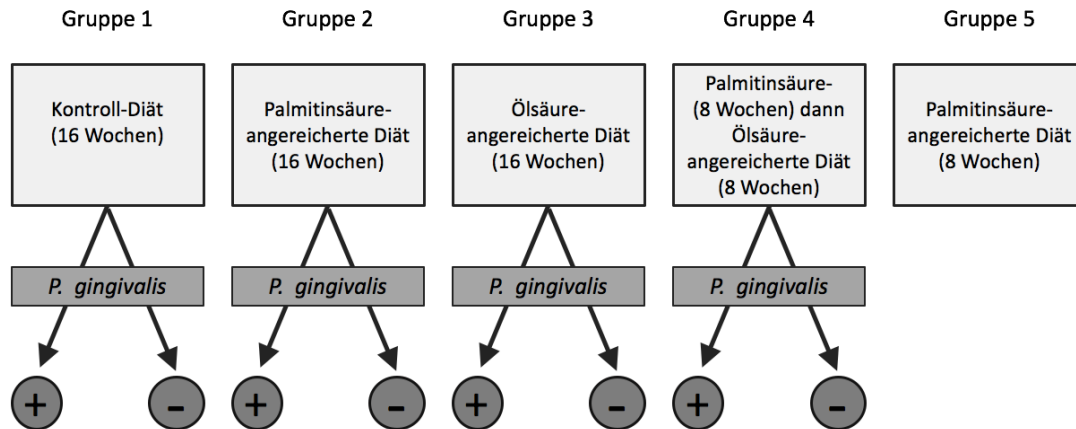


Abb. 7 Gruppeneinteilung und Behandlungen

Einteilung der Gruppen nach den verschiedenen Diäten (hellgrau) und der Aufteilung in Infektions- (+ *P. gingivalis*) und Placebo Gruppe (- *P. gingivalis*, dunkelgrau).

Die Kontrollgruppe (K, Gruppe 1) erhielt als Kontrolldiät normalfetthaltiges Futter (*low fat diet*, LFD; sniff, Deutschland, D12011506) mit einem Gesamtfettgehalt von 4,1 %. Um den Einfluss von gesättigter Palmitinsäure bzw. ungesättigter Ölsäure auf den Knochenmetabolismus und die Entzündungsparameter untersuchen zu können, erhielten die vier anderen Gruppen (Gruppe 2-5) verschiedene fettsäurehaltige Spezialdiäten mit einem Gesamtfettgehalt von jeweils 8,6 %.

Versuchsgruppe 2 erhielt Palmitinsäure-angereichertes Futter (*high fat diet*, HFD, *palmitic acid*, PA; sniff, Deutschland, D12011503), während die Diät von Versuchsgruppe 3 mit Ölsäure (HFD; *oleic acid*, OA; sniff, Deutschland, D12011501) angereichert war. Versuchsgruppe 4 wurde nach einer initialen achtwöchigen Ernährung mit Palmitinsäure-angereichertem Futter auf Ölsäure-angereichertes Futter umgestellt. Zu Vergleichszwecken wurde eine weitere Kontrollgruppe (Gruppe 5) nur acht Wochen lang mit Palmitinsäurehaltiger Diät gefüttert und anschließend euthanasiert. Eine Übersicht über die Gruppeneinteilung und Behandlungen bietet Tab. 4. Die genaue Zusammensetzung des Futters ist Abb. 8 zu entnehmen.

Ingredient	U	LF 4.1 % fat D12011506 S2763-E730	HF 8.6 % fat D12011503 S2763-E732	HF 8.6 % fat D12011501 S27623-E736
Product No.				
Casein	%	20.000	20.000	20.000
Corn starch, pre-gelatinized	%	36.500	32.000	32.000
Maltodextrin	%	10.490	10.480	10.490
Dextrose	%	14.000	14.000	14.000
Cellulose powder	%	7.000	7.000	7.000
Inulin	%	2.000	2.000	2.000
L-Cystine	%	0.280	0.280	0.280
Vitamin premix	%	1.000	1.000	1.000
Mineral & trace element premix	%	4.500	4.500	4.500
Choline Cl (50 %)	%	0.200	0.200	0.200
Dye [yellow / green / red / blue / M]	%	0.030	0.040	0.030
Palm oil	%	—	3.800	—
Palmitate ethyl ester, ≥97 %	%	—	3.800	—
HO Sunflower oil	%	3.100	—	7.600
Soybean oil	%	0.900	0.900	0.900
Proximate contents				
Crude protein	%	17.7	17.7	17.7
Crude fat	%	4.1	8.6	8.6
Crude fiber	%	8.8	8.8	8.8
Crude ash	%	4.0	4.0	4.0
Starch	%	35.1	30.8	30.8
Dextrin	%	10.4	10.4	10.4
Sugar	%	13.9	13.9	13.9
NfE (carbohydrates)	%	60.4	56.0	56.0
Energy (Atwater)	MJ/kg	14.6	15.6	15.6
kcal% Protein		20	19	19
kcal% Fat		11	21	21
kcal% Carbohydrates		69	60	60
Fatty acids, % in the diet				
C 14:0		0.01	0.05	0.01
C 16:0		0.25	5.19	0.42
C 18:0		0.13	0.22	0.27
C 20:0		0.01	0.02	0.02
C 16:1		0.01	0.01	0.01
C 18:1		2.85	1.75	6.63
C 20:1		0.01	0.01	0.02
C 18:2		0.66	0.82	0.94
C 18:3		0.06	0.06	0.06

Abb. 8 Futterzusammensetzung

Zu sehen ist eine Übersicht der Inhaltsstoffe des normalen Futters (LF 4,1 % fat) und der fettsäurehaltigen Futter (HF 8,6 % fat). Die Futter unterscheiden sich vor allem im Fettsäuregehalt der unterschiedlichen Fettsäuren. Wichtige Unterschiede zwischen den Diäten sind grau hervorgehoben.

Tab. 4 Übersicht über die Gruppeneinteilung und durchgeführte Behandlungen

Gruppe	Behandlung	Anzahl (n)
1 A	Kontrolldiät	12
1 B	Kontrolldiät, Infektion mit <i>P. gingivalis</i> über 5 Wochen	12
2 A	Palmitinsäure-angereicherte Diät über 16 Wochen	12
2 B	Palmitinsäure-angereicherte Diät über 16 Wochen Infektion mit <i>P. gingivalis</i> über 5 Wochen	12
3 A	Ölsäure-angereicherte Diät über 16 Wochen	12
3 B	Ölsäure-angereicherte Diät über 16 Wochen Infektion mit <i>P. gingivalis</i> über 5 Wochen	12
4 A	Palmitinsäure-angereicherte Diät über 8 Wochen, dann Ölsäure-angereicherte Diät über 8 Wochen	12
4 B	Palmitinsäure-angereicherte Diät über 8 Wochen, dann Ölsäure-angereicherte Diät über 8 Wochen Infektion mit <i>P. gingivalis</i> über 5 Wochen	12
5 A	Palmitinsäure-angereicherte Diät über 8 Wochen	12

4.5.4. *Porphyromonas gingivalis* Infektion

Um vor Beginn der Infektion die Mundflora aller Tiere anzugleichen und somit eine vergleichbare Ausgangssituation für die Infektion zu schaffen, wurden nach neun Wochen Diät den verbleibenden Versuchsgruppen (Gruppe 1-4) vier Tage lang 0,1 mg/ml Enrofloxacin oral mit dem Trinkwasser verabreicht.

Anschließend wurden wiederum jeweils die Hälfte der Tiere pro Versuchsgruppe über einen Zeitraum von fünf Wochen, je dreimal pro Woche, mit dem Parodontitis-induzierenden Keim *P. gingivalis* infiziert (Untergruppe B). Hierfür wurden per Knopfkanüle 50 µl einer Lösung oral appliziert, die eine Gesamtkeimzahl von 10^9 colony forming units (CFU) *P. gingivalis* in 2 % Methylcellulose enthielt. Der anderen Hälfte wurde als Kontrollgruppe dreimal pro Woche 2 % Methylcellulose in PBS über denselben Zeitraum und mittels derselben Methode verabreicht (Untergruppe A). Die Tiere wurden innerhalb einer Woche nach der letzten Infektion und insgesamt 16 Wochen nach Beginn des Experimentes einzeln und nacheinander durch Kohlenstoffdioxid (CO₂) euthanasiert. Nach Ausbleiben der Reflexe wurden die Proben direkt am frishtoten Tier entnommen. Abb. 9 stellt den Ablauf der gesamten Studie im Zeitverlauf dar.

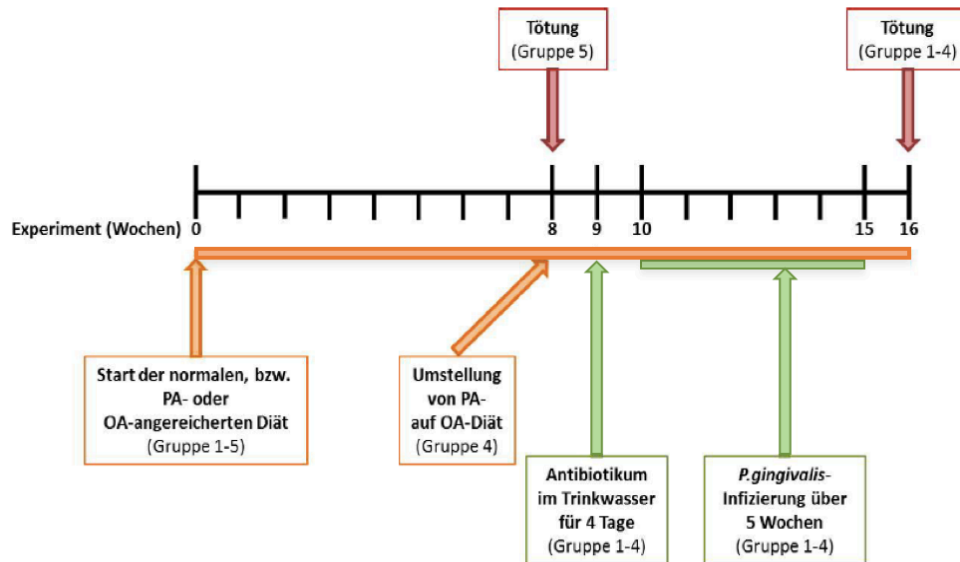


Abb. 9 Übersicht des Studiendesigns im Zeitverlauf

Zu Beginn des Experimentes erhielten die Gruppen verschiedene Diäten (Gruppen 1-5 mit Kontroll, PA oder OA Diät), nach 8 Wochen erfolgte bei Gruppe 4 eine Ernährungsumstellung von PA auf OA, Gruppe 5 wurde euthanasiert. Anschließend erhielten alle Gruppen vier Tage lang eine Behandlung mit Antibiotikum (0,1 mg/ml Enrofloxacin). Ab Woche 10 des Versuchs begann die Infektion, diese dauerte 5 Wochen. Innerhalb einer Woche nach der letzten Infektion wurden alle Tiere euthanasiert. Das Experiment dauerte insgesamt 16 Wochen.

4.5.5. Gewinnung und Vorbereitung der Serumproben

Unmittelbar nach der Euthanasie wurde das Blut durch Herzpunktion mittels G 24 Kanüle (Sterican® Gr. 17, G 24 x 1", Braun) entnommen und in ein 1,5 ml Reagiergefäß überführt. Daraufhin wurde es 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert und das geronnene Blut bei 4 °C und 5000 G für 10 min zentrifugiert (Centrifuge 5417R, Eppendorf). Anschließend wurde das Serum abgenommen, aliquotiert und umgehend bei -20 °C eingefroren.

4.6. ELISA zur Proteinbestimmung

Die Bestimmung der systemischen Marker des Knochenmetabolismus und des Inflammationsstatus als Reaktion auf die Infektion mit *P. gingivalis* und die Ernährung mit Fettsäuren erfolgte mittels ELISA (*Enzyme-linked immunoabsorbent assay*). Hierfür wurde das Serum, wie in Kapitel 4.5 beschrieben, gewonnen. Zur Proteinbestimmung wurden die Seren auf Eis aufgetaut. Alle Arbeitsschritte mit Ausnahme der Messung wurden aufgrund potentieller Kontamination mit *P. gingivalis* unter der Sterilbank (Hera safe, Hereaus) durchgeführt. Alle Proben und Standards wurden im technischen Duplikat aufgetragen. Zum Pipettieren wurden Low Retention Pipettenspitzen (Biosphere® Filter Tips Low Retention 2-200 µl, Sarstedt bzw.

Biosphere® Quality Pipette Tips Low Retention 2-200 µl, Sarstedt) verwendet, um Pipettierungenauigkeiten möglichst gering zu halten.

Die Absorption wurde bei der vom Hersteller genannten Wellenlänge von 450 nm mittels Absorptionsreader (Infinite M Nano, Tecan) und entsprechender Software (i.control 2.0, Tecan) gemessen. Die Auswertung erfolgte nach Herstellerangaben. Die absolut errechneten Serumkonzentrationswerte der Knochenmarker wurden auf den Durchschnittswert der jeweiligen Kontrollgruppe pro Assay normalisiert, um die Inter-Assay Abweichungen auszugleichen und die Darstellung der relativen Unterschiede zwischen den Gruppen zu optimieren.

4.6.1. IL-6 und TNF- α

Der Serumproteingehalt der Inflammationsmarker IL-6 und TNF- α wurde mittels entsprechender ELISA Kits des Herstellers myBiosource bestimmt. Beide Assays wurden jeweils mit 50 µl unverdünntem Serum pro Well gemäß Herstellerangaben durchgeführt. Die einzige Abwandlung vom Herstellerprotokoll war die Verwendung von nur 300 µl Wash Buffer pro Waschschrift und Well (Anzahl (n)=6 pro Gruppe; Quantikine® ELISA SixPak Mouse TNF-alpha bzw. IL-6, R&D Systems).

4.6.2. OC, PINP und CTX

Der Serumproteingehalt ausgewählter Marker des Knochenmetabolismus (OC, PINP und CTX) wurde ebenfalls mittels ELISA Kits von myBioSource bestimmt.

Abweichend von den Herstellerangaben wurde im CTX-Assay nur 40 µl anstatt 50 µl unverdünntes Serum eingesetzt. Initiale Messungen gemäß den Herstellerangaben deuteten darauf hin, dass bei der Verwendung von 50 µl Serum die resultierenden Absorptionswerte einiger Gruppen oberhalb des linearen Bereichs zu messen wären. Die ermittelten Konzentrationswerte wurden dafür bei der Auswertung mit dem Faktor 1,2 multipliziert. Alle anderen Arbeitsschritte wurden nach Herstellerangaben durchgeführt (n=6 pro Gruppe; Mouse C Terminal Telopeptide of Type I Collagen (CTX) ELISA Kit; myBioSource).

Für den OC- und PINP- Assay wurden die Proben 1:5 mit PBS verdünnt (DPBS 1x, gibco, steril; Herstellerangaben des PINP Kits sehen die Verwendung von Assay Diluent vor, die Verdünnung mit PBS verändert jedoch nach Aussage des Herstellers das Ergebnis kaum). Beide ELISAs wurden gemäß Herstellerangaben durchgeführt, einzige Abweichung vom Herstellerprotokoll war beim OC-Assay die Reduktion der Inkubationszeit der Substratlösung

auf 10 min, um den Übergang in eine Sättigung zu vermeiden (n=6 pro Gruppe, Mouse PINP (Procollagen Type I N-Terminal Propeptide) / Osteocalcin (OC) ELISA Kit; myBioSource).

4.7. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte in GraphPad Prism Version (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Für Vergleiche zwischen den verschiedenen Gruppen wurde eine One-Way Analysis of Variance (ANOVA) durchgeführt. Unterschiede wurden bei $p < 0,05$ als statistisch signifikant angenommen. Sofern nicht anders angegeben, sind in den Abbildungen und Tabellen die Mittelwerte mit Standardfehler (SEM) gezeigt.

5. Ergebnisse

5.1. Gewichtszunahme in Abhängigkeit von der Diät

Um mögliche Unterschiede bezüglich der Gewichtszunahme in Abhängigkeit von der gefütterten Diät detektieren zu können, wurden alle Tiere wöchentlich gewogen und das Gewicht über die Dauer des Experimentes dokumentiert. Das Ausgangsgewicht der vier Wochen alten Tiere lag bei durchschnittlich 14,6 g. Die einzelnen Gewichte variierten dabei je nach Entwicklungsstand des Jungtieres zwischen 10,6 g und 18,7 g. Der Gewichtsverlauf über 16 Wochen Versuchsdauer ist in Abb. 10 dargestellt. Wie zu erkennen ist, gab es eine kontinuierliche Gewichtszunahme bei allen Versuchsgruppen bis zum Ende des Experimentes. Die Kontrollgruppe war dabei etwas leichter als die mit fettsäurehaltigen Diäten gefütterten Gruppen (siehe Abb. 11). Am Versuchsende hatten die Gruppen, welche eine der Palmitinsäure-reichen Diätvarianten erhielten, ein zwar nur gering, aber dennoch signifikant höheres Endgewicht als die Kontrollgruppe.

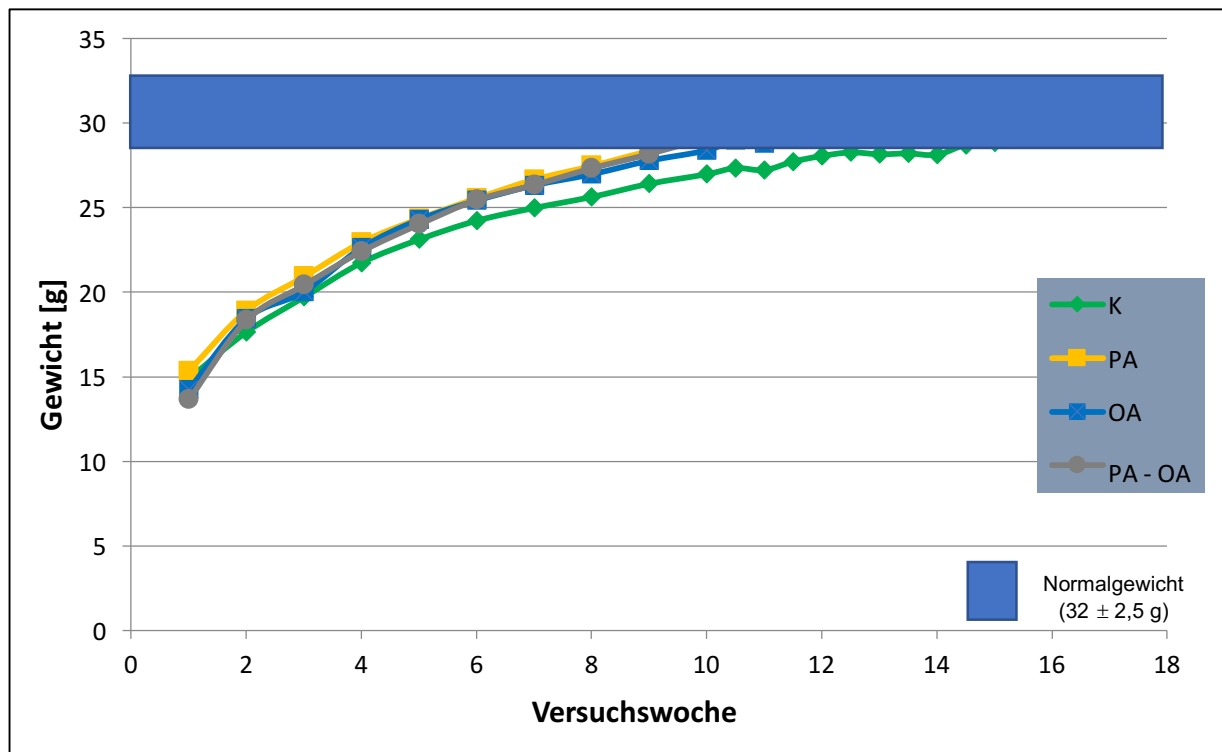


Abb. 10 Gewichtsverlauf der Gruppen während des Experimentes

Dargestellt sind die Gewichtskurven aller Gruppen bis Versuchswoche 16. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind nur die Mittelwerte dargestellt. Alle Tiere nahmen bis zum Ende des Experimentes kontinuierlich zu. Die Tiere mit fettsäurehaltiger Diät sind final etwas schwerer als die Kontrollgruppe. Alle Gruppen liegen im normalgewichtigen Bereich (blau) (Endgewicht in g: $29,2 \pm 2,2$ [K]; $32,1 \pm 2,7$ [PA]; $30,5 \pm 2,2$ g [OA] $31,3 \pm 2,4$ [PA+OA]).

Dies trifft sowohl auf die Tiere zu, die acht Wochen lang eine Palmitinsäure-haltige Diät erhielten und anschließend auf Ölsäure umgestellt wurden, als auch auf die reine Palmitinsäure Gruppe (Endgewicht in g: $29,2 \pm 2,2$ [K] vs. $32,1 \pm 2,7$ [PA] vs. $31,3 \pm 2,4$ [PA+OA]; $p < 0,05$ bzw. $p < 0,001$). Die Gruppe mit Ölsäure-haltiger Diät wog ebenfalls mehr als die Kontrollgruppe ($30,5 \text{ g} \pm 2,2 \text{ g}$ [OA]), hier war der Unterschied jedoch nicht signifikant ($p=[\text{ns}]$).

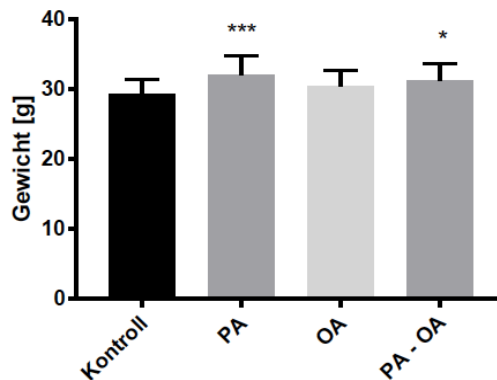


Abb. 11 Endgewichte der Diäten im Vergleich

Die Gruppe PA ist signifikant schwerer als die Kontrollgruppe, ebenso die Gruppe PA-OA. Die Gruppe OA ist schwerer als die Kontrollgruppe, der Unterschied ist jedoch nicht signifikant (Endgewichte in g: $29,2 \pm 2,2$ [K] vs. $32,1 \pm 2,7$ [PA], $p < 0,001$; bzw. [K] vs. $31,3 \pm 2,4$ [PA+OA], $p < 0,05$; bzw. [K] vs. $30,5 \pm 2,2$ [OA], $p = [\text{ns}]$).

Das Endgewicht der 20 Wochen alten Tiere betrug im Durchschnitt $30,8 \text{ g} \pm 2,6 \text{ g}$. Die Gewichtsverläufe aller Gruppen waren vergleichbar. Hervorzuheben ist besonders, dass alle Tiere final im normalgewichtigen Bereich lagen (siehe Abb. 10). Dieser liegt gemäß Literaturangaben bei männlichen Tieren dieses Alters bei ca. $32 \text{ g} \pm 2,5 \text{ g}$ (vgl. Kapitel 2.3.6). Zwar provozierten die fettsäurehaltigen Diäten im Durchschnitt teilweise ein signifikant höheres Gewicht, der absolute Gewichtsunterschied betrug jedoch nur ca. 2-3 g. Da im Versuchsaufbau vor allem das Normalgewicht entscheidend war, ist der minimale Gewichtsunterschied zwischen K und PA bzw. PA+OA wahrscheinlich vernachlässigbar.

5.2. Analyse des Serumproteingehalts der Inflammationsmarker IL-6 und TNF- α

Um die Auswirkungen der verschiedenen Diätvarianten und der oralen Infektion mit *P. gingivalis* auf systemische Inflammationsvorgänge zu eruieren, wurden zwei ausgewählte Inflammationsmarker analysiert.

5.2.1. Untersuchung der IL-6 Produktion auf Proteinebene hinsichtlich Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit *P. gingivalis*

Das beispielsweise bei systemischen Inflammationsgeschehnissen in Abhängigkeit von Adipositas oder bei parodontalen Infektionen sezernierte IL-6 dient als Parameter der Entzündungsaktivität. Um zu untersuchen, ob die fettsäurehaltigen Diäten bei normalgewichtigen Versuchstieren Einfluss auf das systemische Inflammationsniveau besitzen, wurde der IL-6 Proteingehalt im Serum mittels ELISA bestimmt. In Tab. 5. sind die Serumwerte aller Gruppen zusammengefasst, aufgeführt sind Mittelwerte und Standardfehler. Negative Werte kamen dabei durch die mathematische Umrechnung der Absorptionswerte in Konzentrationswerte zustande und wurden aus diesem Grund gleich 0 [pg/ml] gesetzt.

Tab. 5 IL-6 Serumkonzentrationen der Versuchsgruppen

Bezeichnung	Gruppe	Mittelwert IL-6 [pg/ml]	SEM \pm [pg/ml]	n
K	1 A	3,6	3,3	6
K + <i>P.g.</i>	1 B	5,0	1,8	6
PA	2 A	1,3	2,5	6
PA + <i>P.g.</i>	2 B	$(-2,8) \hat{=} 0$	1,7	6
OA	3 A	$(-0,6) \hat{=} 0$	2,6	6
OA + <i>P.g.</i>	3 B	5,4	2,3	6
PA + OA	4 A	1,4	2,8	6
PA + OA + <i>P.g.</i>	4 B	6,8	2,3	6
PA Kontrolle	5 A	0	0,1	6

Weder PA- noch OA-angereicherte Diät beeinflussen bei Normalgewicht den systemischen IL-6 Serumspiegel

Bei Betrachtung der Auswirkung verschiedener Diätvarianten im Vergleich zur Kontrolldiät zeigte sich, dass bei Normalgewicht die fettsäurehaltigen Diäten (PA, OA und PA+OA) kein Anstieg des systemische IL-6 Levels zur Folge hatten, siehe Abb. 12 (IL-6 Konzentration in [pg/ml]: $3,6 \pm 3,3$ [K] vs. $1,3 \pm 2,5$ [PA] vs. $(-0,6 \pm 2,6)$ nicht detektierbar (n.d.) [OA] vs. $1,4 \pm 2,8$ [PA+OA]). Dies zeigte sich daran, dass bei der Analyse die Werte der

fettsäurehaltigen Diäten im Durchschnitt tendenziell eher unter dem Serumwert der Kontrollgruppe lagen, keinesfalls darüber. In diesem Zusammenhang wurden bei der Fütterung mit PA-angereicherten Diäten (Gruppe 2, 4 und 5) teilweise so niedrige IL-6 Serumkonzentrationen detektiert, dass die Mittelwerte unter der Nachweisgrenze des Kits ($<1,8$ [pg/ml]) lagen.

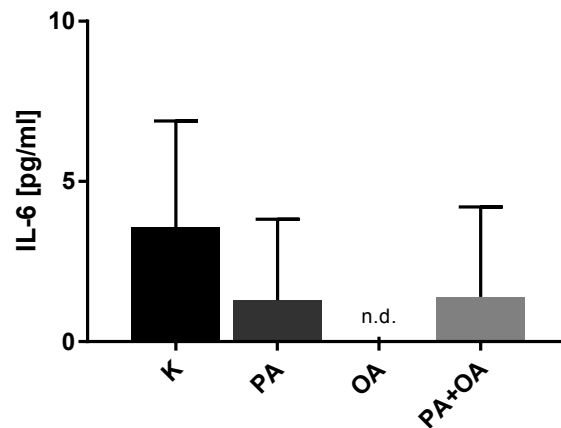


Abb. 12 Veränderungen der IL-6 Serumspiegel durch verschiedene FS-Diäten

Die IL-6 Serumwerte befinden sich bei allen Gruppen auf einem niedrigen basalen Level. PA-, OA- und PA+OA-haltige Diäten heben den Mittelwert des IL-6 Levels im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht an ($p=[ns]$).

Nur einzelne Individuen wiesen in diesen Gruppen minimale messbare IL-6 Konzentrationen auf, in einigen Fällen war der IL-6 Proteingehalt überhaupt nicht detektierbar. Die Fütterung der reinen OA-haltigen Diät führte ebenfalls nur bei vereinzelt Tieren zu minimal nachweisbaren IL-6 Serumspiegeln. Da der Durchschnittswert auch hier weit unter der Nachweisgrenze lag, galt das IL-6 Proteinlevel auch hier als nicht detektierbar.

Insgesamt lagen die Serumwerte aller Diätgruppen auf einem sehr niedrigen basalen Level und allesamt im Normalbereich. Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den fettsäurehaltigen Diätvarianten festgestellt werden. Weder PA-angereicherte Ernährung über acht bzw. 16 Wochen, noch OA-angereicherte Diät oder ein Diätenwechsel hatten demnach bei vorliegendem Normalgewicht einen nachweisbaren Einfluss auf die systemische IL-6 Konzentration.

*PA-haltige Diät verursacht bei Normalgewicht keine stärkere systemische Immunreaktion nach Infektion mit *P. gingivalis* als eine OA- oder Kontrolldiät*

Neben den isolierten Einflüssen der Ernährung auf die Inflammationssituation der Tiere sollten noch zwei weitere Fragestellungen untersucht werden. Zum einen sollte die Auswirkung der

Infektion mit *P. gingivalis* auf die systemische Inflammation analysiert werden, zum anderen sollten die Einflüsse der verschiedenen Fettsäuren in Kombination mit der oralen Infektion beleuchtet werden. Das vorrangige Ziel bestand darin, zu eruieren, ob die gesättigte Palmitinsäure oder die ungesättigte Ölsäure bzw. eine Kombination beider Diäten in der Ernährung bei Normalgewicht die Reaktion des Organismus auf eine durch *P. gingivalis* Infektion provozierte Entzündungssituation modulierten.

Zunächst wurde die Auswirkung der oralen Infektion mit *P. gingivalis* auf den systemischen Inflammationsstatus analysiert. Bei allen betrachteten Ernährungsgruppen war, außer unter PA-Diät, bei den mit *P. gingivalis* infizierten Gruppen eine Tendenz des IL-6-Serumspiegel erkennbar. Die orale Infektion verursachte hierbei eine nicht signifikante Steigerung der IL-6 Serumkonzentration im Vergleich zur Placebogruppe, siehe Abb. 13 (IL-6 Konzentration in [pg/ml]: $3,6 \pm 3,3$ [K] vs. $5,0 \pm 1,8$ [K+*P.g.*]; $1,3 \pm 2,5$ [PA] vs. $(-2,8 \pm 1,7$ nicht detektierbar, n.d.) [PA+*P.g.*]; $(-0,6 \pm 2,6$ n.d.) [OA] vs. $5,4 \pm 2,3$ [OA+*P.g.*]; $1,4 \pm 2,8$ [PA+OA] vs. $6,8 \pm 2,3$ [PA+OA+*P.g.*]).

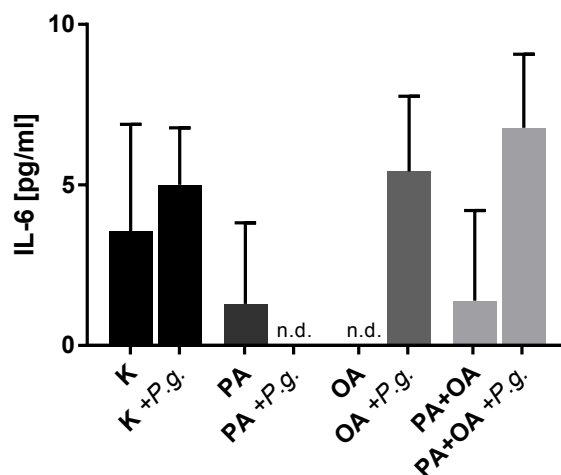


Abb. 13 Veränderungen der IL-6 Serumspiegel durch Infektion mit *P. gingivalis*.

Die Infektion mit *P.g.* erhöht das IL-6 Level bei [K], [OA] und [PA+OA] nicht signifikant jedoch tendenziell ($p=[ns]$). In der Gruppe [PA+*P.g.*] ist bei Infektion kein IL-6 nachweisbar (n.d.= nicht detektierbar).

Die Serumkonzentrationen der infizierten Gruppen lagen dabei unabhängig von der Diät sowohl bei der Kontrollgruppe als auch bei den fettsäurehaltigen Diäten mit Infektion auf einem vergleichbaren Niveau (IL-6 Konzentration in [pg/ml]: $5,0 \pm 1,8$ [K+*P.g.*] vs. $5,4 \pm 2,3$ [OA+*P.g.*] vs. $6,8 \pm 2,3$ [PA+OA+*P.g.*]). Eine Ausnahme stellte dabei nur die Gruppe PA + *P.g.* dar. Ihre mittlere Serumkonzentration lag weit unterhalb der Nachweisgrenze und war aus diesem Grund nicht detektierbar. Die Konzentrationswerte mit und ohne Infektion unterschieden sich bei allen fettsäurehaltigen Spezialdiäten, wie bei der Kontrollgruppe, um nur

wenige [pg/ml]. Das Inflammationslevel der infizierten Tiere wurde demnach weder durch Palmitinsäure, noch durch Ölsäure oder eine Kombination beider überhaupt angehoben bzw. wesentlich stärker angehoben als bei infizierten Kontrolltieren. Es konnte somit keine Modulation der Reaktion auf die orale Infektion durch gesättigte PA bzw. ungesättigte OA nachgewiesen werden. Der Anstieg der IL-6 Konzentration durch Infektion war bei keiner fettsäurehaltigen Ernährungsgruppe überschießend.

Die Analysen zeigten weiterhin weder bei Vergleichen zwischen den verschiedenen Diäten, noch zwischen Gruppen mit und ohne Infektionen statistisch signifikante Unterschiede bezüglich des IL-6 Levels. Es konnten nicht signifikante Tendenzen beobachtet werden, die eine leichte Erhöhung des IL-6 Spiegels durch Infektion mit *P. gingivalis* andeuteten. Insgesamt zeigte sich allerdings zweifellos, dass die Serumspiegel unabhängig von der Ernährung und Infektion auf einem sehr niedrigen Niveau (<15 [pg/ml]) lagen. Die ermittelten Serumwerte liegen überdies im Normalbereich. Eine systemisch nachweisbare Infektion wurde bei Infektion mit *P. gingivalis* demzufolge nicht hervorgerufen. Die PA-haltige Diät verschlechterte den Inflammationsstatus bei normalgewichtigen Tieren nicht, weder in Kombination mit, noch ohne die Infektion mit *P. gingivalis*. Dies galt gleichermaßen für die achtwöchige und die 16-wöchige Diät. Die OA-haltige Diät zeigt im Rahmen der basalen Inflammationswerte keinen protektiven Effekt im Vergleich zu Palmitinsäure. Auch die Umstellung der PA- auf die OA-haltige Diät zeigte bei dem niedrigen systemischen Inflammationsniveau keine gesonderte Auswirkung.

5.2.2. Untersuchung der TNF- α Produktion auf Proteinebene hinsichtlich

Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit *P. gingivalis*

TNF- α wird als Entzündungsmediator bei Inflammationsvorgängen ausgeschüttet. Ergänzend zu IL-6 wurde aus diesem Grund der TNF- α Proteingehalt im Serum mittels ELISA bestimmt, um einen systemischen Inflammationsstatus zum Zeitpunkt des Versuchsendes zu erhalten. Die TNF- α Serumproteinwerte aller Gruppen sind in Tab. 6 aufgeführt. Wie unter Kapitel 5.2.1 erläutert, kommen negative Werte nur rechnerisch zustande und werden daher gleich 0 [pg/ml] gesetzt. Es wurde bei keiner Gruppe eine TNF- α Konzentration im Bereich über der Nachweisgrenze des Kits (1,8-7,21 [pg/ml]) nachgewiesen. Die detektierten Serumwerte lagen weit unterhalb der Grenze (höchster Wert: [OA +*P.g.*] mit 0,1 [pg/ml]).

Tab. 6 TNF- α Serumkonzentrationen der Versuchsgruppen

Bezeichnung	Gruppe	Mittelwert TNF- α [pg/ml]	SEM \pm [pg/ml]	n
K	1 A	$(-1,69) \approx 0$	0,8	6
K + P.g.	1 B	$(-1,6) \approx 0$	0,6	6
PA	2 A	$(-1,2) \approx 0$	0,4	6
PA + P.g.	2 B	$(-1,0) \approx 0$	0,9	6
OA	3 A	$(-0,9) \approx 0$	1,1	6
OA + P.g.	3 B	0,1	0,7	6
PA + OA	4 A	$(-0,3) \approx 0$	1,0	6
PA + OA + P.g.	4 B	$(-1,7) \approx 0$	0,6	6
PA Kontrolle	5 A	$(-1,3) \approx 0$	1,2	6

Da das TNF- α Level bei keiner Gruppe über der Nachweisgrenze lag, sollten die dennoch gemessenen geringfügigen Schwankungen auf unvermeidbare Pipettierungenauigkeiten oder zufällige Abweichungen im Rahmen der Messung zurückgeführt werden.

Das Ergebnis zeigt demnach eindeutig, dass bei normalgewichtigen Tieren durch keine der verabreichten Diäten oder durch die Infektion mit *P. gingivalis* eine Erhöhung des systemischen TNF- α Spiegels und somit eine systemische Inflammation stattgefunden hat.

5.3. Analyse der systemischen Marker des Knochenmetabolismus

Zur Analyse des Einflusses verschiedener Diäten und die Auswirkung der oralen Infektion mit *P. gingivalis* auf das Knochenremodeling wurden die Serumproteingehalte verschiedener systemische Marker des Knochenmetabolismus bestimmt. Es wurde hierbei exemplarisch ein ausgewählter Marker des Knochenabbaus und zwei Marker des Knochenaufbaus zur Untersuchung herangezogen. Alle Knochenremodeling-Marker wurden hierfür mittels ELISA bestimmt. Die Betrachtung der Marker erfolgt zunächst getrennt und wird abschließend in einen zusammenfassenden Kontext gebracht.

5.3.1. Untersuchung der CTX Produktion auf Proteinebene hinsichtlich Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit *P. gingivalis*

Das als Nebenprodukt beim Abbau des Knochens ins Serum freigesetzte CTX dient als systemischer Parameter des Knochenabbaus. Um den Umfang des Abbaus abzuschätzen, wurde daher der CTX Serumspiegel bestimmt. Zur erleichterten Darstellung der Unterschiede und Schwankungen zwischen den Versuchsgruppen wurden die Werte aller Fettsäure-Gruppen auf den Wert der Kontrollgruppe normiert und relativ in Prozent angegeben. Eine Übersicht über das relative Verhältnis zur Kontrollgruppe und die absolut ermittelten Serumkonzentrationen bietet Tab. 7.

Tab. 7 Absolut ermittelte CTX Serumkonzentrationen und relative Expression zur Kontrollgruppe in Prozent

Bezeichnung	Gruppe	Mittelwert CTX [pg/ml]	SEM \pm [pg/ml]	CTX %	SEM \pm %	n
K	1 A	182,2	9,1	100,0	4,6	6
K+ P.g.	1 B	160,2	4,4	87,2	3,5	6
PA	2 A	174,9	8,3	95,0	4,2	6
PA + P.g.	2 B	160,3	7,8	86,9	3,5	6
OA	3 A	155,0	8,5	84,7	6,1	6
OA + P.g.	3 B	151,6	9,9	82,9	7,0	6
PA + OA	4 A	164,6	12,8	89,0	5,5	6
PA + OA + P.g.	4 B	174,7	14,9	94,6	7,6	6
PA Kontrolle	5 A	162,2	5,2	90,8	2,5	6

Weder PA- noch OA-reiche Diät beeinflussen bei Normalgewicht den Knochenabbau

Betrachtet man zunächst den Einfluss verschiedener Diätvarianten auf den Knochenabbau, so zeigte sich, dass sich keine der mit fettsäurehaltigem Futter ernährten Gruppen signifikant von der Kontrollgruppe unterschied (siehe Abb. 14). Die Diäten wiesen insgesamt ein sehr ähnliches CTX – Level auf (CTX Konzentration in [pg/ml]: $182,2 \pm 9,1$ [K] vs. $174,9 \pm 8,3$ [PA] vs. $155,0 \pm 8,5$ [OA] vs. $164,6 \pm 12,8$ [PA+OA]). Die CTX-Serumspiegel der Gruppen mit fettsäurehaltigen Diäten lagen tendenziell unter der Kontrollgruppe, wobei der CTX-Spiegel der Gruppe OA im Vergleich am niedrigsten lag.

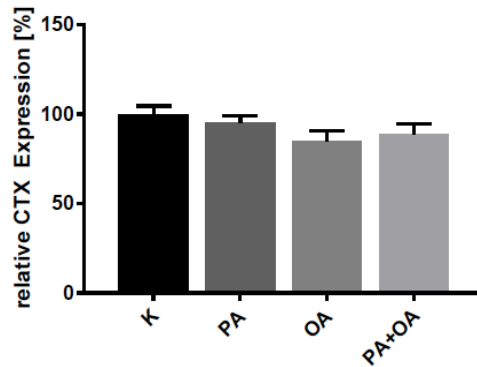


Abb. 14 Relative Veränderungen der CTX Serumspiegel durch verschiedene Fettsäuren
Fettsäurehaltige Diäten bewirken keine wesentliche Veränderung der CTX Level im Vergleich zur Kontrollgruppe (p = [ns]).

Der Knochenabbau wird somit durch keine der ausgewählten Fettsäuren verstärkt. Den Ergebnissen zufolge hatten bei Normalgewicht weder die Palmitinsäure-haltige Diät nach acht bzw. 16 Wochen einen nachweisbaren Einfluss auf den Umfang des Knochenabbaus noch die Ölsäure-haltige Diätformen bzw. die Kombination aus beiden Diätvarianten.

*Bei Normalgewicht hat die Ernährung mit fettsäurehaltiger Diät in Kombination mit der Infektion mit *P. gingivalis* keinen Einfluss auf den Knochenabbau*

Analysiert man die allgemeinen Auswirkungen der oralen Infektion auf den Knochenabbau, so zeigen sich keine signifikanten Einflüsse der Infektion. Die CTX Serumlevel der infizierten Gruppen wichen nur minimal von Werten der Placebo Gruppe ab (siehe Abb. 15).

Die Schwankungen der Mittelwerte im Vergleich zwischen *P. gingivalis*-infizierten und Placebo-infizierten Gruppen variierten in beide Richtungen und waren in keinem Fall signifikant. Die Ernährung mit PA-Diät, OA-Diät oder der Wechsel von PA- auf OA-Diät,

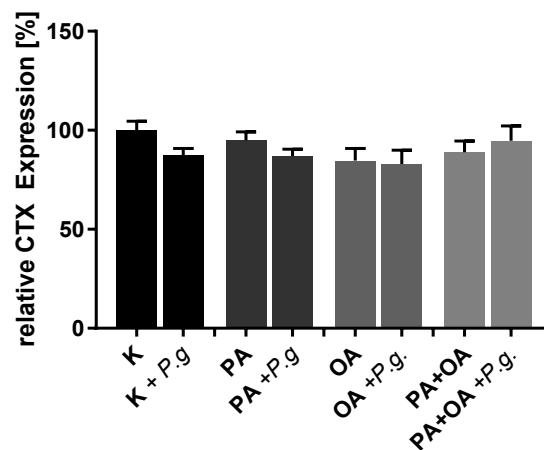


Abb. 15 Relative Veränderungen der CTX Serumspiegel durch Infektion mit *P. gingivalis*
Durch orale Infektion mit *P. gingivalis* zeigt sich bei keiner Gruppe ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe (p=[ns]). Durch keine Kombination aus der Infektion mit einer der Fettsäure-Diätvarianten wird der Knochenabbau stärker moduliert als bei der Kontrollgruppe.

jeweils in Kombination mit der Infektion, rief ebenfalls keine signifikanten Änderungen hervor. (CTX Konzentration in [pg/ml]: $174,9 \pm 8,3$ [PA] vs. $160,3 \pm 7,8$ [PA + P.g.]; $155,0 \pm 8,5$ [OA] vs. $151,6 \pm 9,9$ [OA + P.g.]; $164,6 \pm 12,8$ [PA+OA] vs. $174,7 \pm 14,9$ [PA+OA + P.g.]). Demnach lässt sich aus den vorliegenden Daten keine Tendenz bezüglich unterschiedlicher Auswirkungen von PA oder OA auf den Knochenabbau bei oraler Infektion ableiten. Keine Diätvariante beeinflusste die Auswirkung der Infektion besonders intensiv.

Die Aktivität des Knochenabbaus blieb damit bei allen Gruppen, unbeeinflusst von der Infektion oder der Diät, in einem vergleichbaren Rahmen. Somit ließ sich in dieser Studie bei Normalgewicht weder eine signifikante Veränderung des Knochenabbaus durch die Ernährung über acht bzw. 16 Wochen mit Palmitinsäure, Ölsäure oder eine Kombination beider Ernährungsformen, noch durch die Infektion mit *P. gingivalis* nachweisen.

5.3.2. Untersuchung der OC Produktion auf Proteinebene hinsichtlich Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit *P. gingivalis*

Die Aktivität des Knochenaufbaus lässt sich anhand des vorwiegend von Osteoblasten produzierten Proteins Osteokalzin abschätzen. Daher wurde der Serumspiegel des spezifischen Osteoblastenmarkers als Parameter der Osteoblastenaktivität und damit des Knochenaufbaus bestimmt. Die relativen Verhältnisse verglichen mit der Kontrollgruppe und die absolut gemessenen Serumkonzentrationswerte sind in Tab. 8 zu finden.

Weder PA- noch OA-angereicherte Ernährung haben bei Normalgewicht Einfluss auf den systemischen OC Serumspiegel

Tab. 8 Absolut ermittelte OC Serumkonzentrationen und relative Expression zur Kontrollgruppe in Prozent

Bezeichnung	Gruppe	Mittelwert OC [ng/ml]	SEM ±[ng/ml]	OC %	SEM ± %	n
K	1 A	10,6	2,1	100,0	3,2	6
Kontroll + P.g.	1 B	13,8	3,1	127,3	4,9	6
PA	2 A	15,1	4,7	128,5	14,9	6
PA + P.g.	2 B	15,7	4,7	135,5	16,8	6
OA	3 A	14,3	3,5	129,2	7,8	6
OA + P.g.	3 B	13,6	3,6	120,8	8,2	6
PA + OA	4 A	14,8	4,8	125,2	17,3	6
PA + OA + P.g.	4 B	14,7	4,0	130,0	11,8	6
PA Kontroll	5 A	20,7	5,8	157,2	20,6	6

Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigte sich bei der Fütterung verschiedener Fettsäurediäten keine signifikante Änderung des Knochenaufbaus. Wie Abb. 16. zu entnehmen ist, wiesen überdies alle Fettsäuren einen nahezu identischen Serumspiegel und damit unabhängig von der Sättigung keine unterschiedlichen systemischen Auswirkungen auf den Knochenaufbau auf.

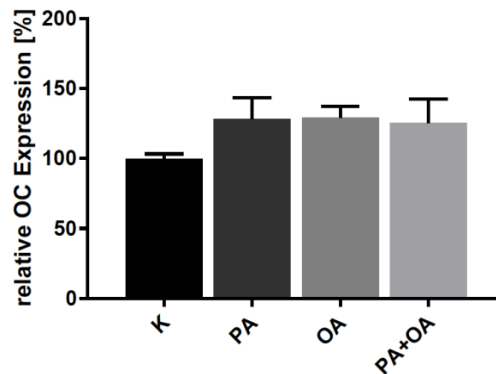


Abb. 16 Relative Veränderungen der OC Serumspiegel durch verschiedene Fettsäuren

Die fettsäurehaltigen Ernährungs bewirken keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe, die tendenzielle Erhöhung des OC Spiegels durch fettsäurehaltige Diäten ist statistisch nicht nachweisbar ($p=[ns]$).

Es zeigte sich bei allen Fettsäuren eine leichte, nicht signifikante Tendenz in Richtung eines angehobenen OC Spiegels bei der Ernährung mit fettsäurehaltigem Futter (OC Konzentration in [ng/ml]: $10,6 \pm 2,1$ [K] vs. $15,1 \pm 4,7$ [PA] vs. $14,3 \pm 3,5$ [OA] vs. $14,8 \pm 4,8$ [PA+OA]). Zu beachten ist hierbei, dass die Kontrollgruppe die einzige Gruppe war, die einen tendenziell geringeren OC Serumwert aufwies. Da alle anderen Gruppen auf einem etwas höheren aber insgesamt sehr ähnlichen Niveau lagen, könnte die scheinbare Tendenz möglicherweise auch durch ein zufällig niedriges OC Serumlevel der Kontrollgruppe zustande gekommen sein. Aufgrund der niedrigen Anzahl ($n=6$ pro Gruppe) kann dies nicht ausgeschlossen werden. In keinem Falle konnte bei Normalgewicht eine signifikante Beeinflussung des Knochenaufbaus durch acht- bzw. 16-wöchige PA-angereicherte Diät oder OA-Diät bzw. den Diätenwechsel aus PA+OA nachgewiesen werden.

Der Knochenaufbau wird bei P.g. Infektion weder mit noch ohne Fütterung fettsäurehaltiger Diät beeinflusst

Die orale Infektion mit *P. gingivalis* rief bei der Kontrollgruppe im Vergleich zur Placeboinfektion einen tendenziellen jedoch nicht signifikanten Anstieg des OC Spiegels hervor (OC Konzentration in [pg/ml]: $10,6 \pm 2,1$ [K] vs. $13,8 \pm 3,1$ [K+P.g.]). Die fettsäurehaltigen Diäten zeigten bei Infektion mit *P. gingivalis* geringe Schwankungen in beide Richtungen (siehe Abb. 17). Keine Veränderung war dabei statistisch signifikant. Die Infektion in Kombination mit der Ernährung mit PA- bzw. OA-angereicherter Diät oder die Kombination beider Diäten hatte somit keine nachweisbare Auswirkung auf den Knochenaufbau. Die Abweichungen zwischen Infektions- und Placebogruppe schwankten bei PA, OA und PA+OA nur minimal. Somit zeigte sich insgesamt keine verstärkte Reaktion des Knochenmetabolismus bei PA-Diät auf die Infektion im Vergleich zur Infektion unter OA-Diät.

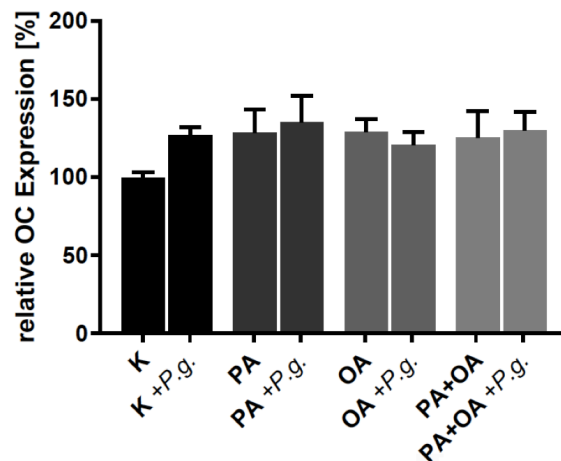


Abb. 17 Relative Veränderungen der OC Serumspiegel durch Infektion mit *P. gingivalis*

Die orale Infektion mit *P. gingivalis* allein oder in Kombination mit verschiedenen fettsäurehaltigen Diäten bewirkt keine signifikante Veränderung des Knochenaufbaus ($p=[ns]$).

Es konnte demnach bei Normalgewicht weder ein signifikanter Einfluss der Ernährung, noch ein Einfluss der Infektion oder der Kombination daraus auf den Knochenaufbau detektiert werden. Die acht- bzw. 16-wöchige PA-Diät zeigte bei Normalgewicht kein signifikant anderes Ergebnis als OA-haltige Diät oder die Kontrolldiät. Ein Diätenwechsel bewirkte ebenfalls keine signifikanten Änderungen bei vorliegendem Normalgewicht.

5.3.3. Untersuchung der P1NP Produktion auf Proteinebene hinsichtlich Beeinflussungen durch Fettsäuren oder der Infektion mit *P. gingivalis*

P1NP ist als n-terminales Abspaltprodukt von Prokollagen Typ I ein systemischer Parameter des Knochenaufbaus. Daher wurde der Serumproteingehalt von P1NP ergänzend zu Osteokalzin bestimmt. Die relativen Verhältnisse, verglichen mit der Kontrollgruppe, und die absolut gemessenen Serumkonzentrationswerte sind in Tab. 9 zu finden.

Tab. 9 Absolute P1NP Serumkonzentrationen und relative Expression zur Kontrollgruppe in Prozent

Bezeichnung	Gruppe	Mittelwert P1NP [pg/ml]	SEM ±[pg/ml]	P1NP %	SEM ± %	n
K	1 A	1498,7	395,8	100,0	23,2	6
K + P.g.	1 B	1363,6	439,8	82,5	18,1	6
PA	2 A	1283,5	202,9	83,2	15,5	6
PA + P.g.	2 B	1350,2	388,6	89,6	24,7	6
OA	3 A	1295,1	165,5	87,9	9,1	6
OA + P.g.	3 B	1602,0	215,2	106,7	6,1	6
PA + OA	4 A	1114,0	265,6	82,8	21,6	6
PA + OA + P.g.	4 B	2277,7	298,3	158,5	24,6	6
PA Kontroll	5 A	1029,0	292,5	60,7	16,7	6

Der Knochenaufbau bleibt bei Normalgewicht unbeeinflusst von fettsäurehaltiger Diät

Bei der Analyse des Knochenaufbaumarkers zeigte sich kein gravierender Unterschied im Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den verschiedenen fettsäurehaltigen Diätvarianten (siehe Abb. 18.). Es fanden sich zwar geringe Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den tendenziell etwas niedriger liegenden Serumspiegeln der Fettsäuren, statistisch nachweisbare Veränderungen zwischen den Diätvarianten lagen jedoch nicht vor. Da sich diese Tendenz gegenläufig zur Tendenz der OC Analyse darstellte, kann wahrscheinlich von zufälligen Schwankungen ausgegangen werden.

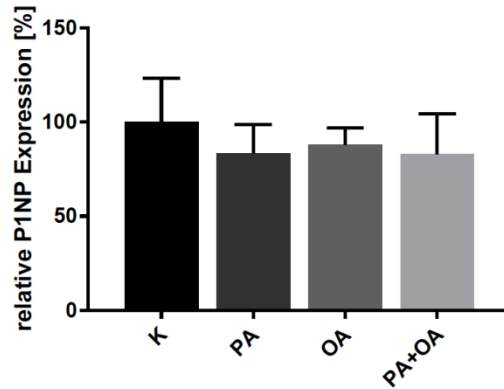


Abb. 18 Relative Veränderungen der P1NP Serumspiegel durch verschiedene Fettsäuren

Das P1NP Serumlevel zeigt sich unbeeinflusst von verschiedenen fettsäurehaltigen Diätvarianten. Es zeigten sich unabhängig von der Sättigung der FS keine statistisch signifikante Abweichung.

Bei Infektion mit P.g. bewirken weder Palmitinsäure noch Ölsäure eine Veränderung des Knochenaufbaus

Im Hinblick auf die Auswirkungen der Infektion mit *P. gingivalis* zeigten sich wie zuvor bei OC uneinheitliche Schwankungen in beide Richtungen. Während bei der Kontrollgruppe die Infektion eine scheinbare Reduktion des P1NP Spiegels verursachte, zeigte sich bei den anderen Diät-Gruppen eher die Tendenz, dass mit *P. gingivalis* inokulierte Gruppen eine höhere Aktivität des Knochenaufbaus aufwiesen als die Placebo Gruppen. Bei PA+OA \pm *P.g.* war dieser nicht signifikante Trend am deutlichsten sichtbar (siehe Abb. 19).

Die Reaktion auf die Infektion lief bei allen Gruppen, außer PA+OA, nur in moderatem Umfang ab und wurde offenbar weder durch Palmitinsäure- noch durch Ölsäure-angereicherte

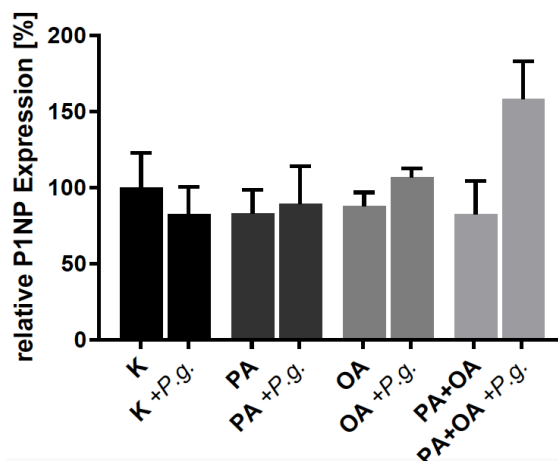


Abb. 19 Relative Veränderungen der P1NP Serumspiegel durch Infektion mit *P. gingivalis*

Bei keiner Gruppe zeigte sich eine statistisch signifikante Beeinflussung des Knochenaufbaus durch Infektion mit *P. gingivalis* ($p=[ns]$).

Diät verstärkt. Wie bereits erwähnt, zeigten sich sowohl hinsichtlich verschiedener Diäten, als auch in Hinblick auf die Infektion mit *P. gingivalis* im Vergleich zu dem Knochenaufbaumarker OC jedoch in vielerlei Hinsicht entgegengesetzte Tendenzen, wodurch die Schlussfolgerung naheliegt, dass die Schwankungen zufälliger Art sind.

Da auch bei P1NP keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich der Reaktionen nach Infektion unter verschiedenen Diäten gemessen wurden, zeigte sich, dass bei Normalgewicht keine der fettsäurehaltigen Diäten in Kombination mit der *P. gingivalis* Infektion den Knochenaufbau nachhaltig beeinflusste.

5.3.4. Zusammenfassende Betrachtung des Knochenremodelings

Um die verschiedenen Vorgänge des Knochenmetabolismus in Gänze betrachten zu können, sollen hier die systemischen Parameter des Knochenabbaus und –aufbaus noch einmal kurz in einen Kontext gebracht werden.

Da sowohl OC als auch P1NP den Knochenaufbau darstellen, sollten sich diese Tendenzen decken, um eine nachhaltige Aussage treffen zu können. Dies war jedoch nicht der Fall, die Tendenzen zeigten sich teilweise sogar gegenläufig. Auch zu CTX, dem Marker des Knochenabbaus, ließ sich keine Korrelation feststellen. Vor allem bezüglich der Auswirkungen von OA und PA auf das Knochenremodeling ist aufgrund der geringen und überdies häufig gegensätzlichen Schwankungen auch bei zusammenfassender Betrachtung aller drei Marker die Schlussfolgerung nahelegend, dass bei Normalgewicht der systemische Knochenmetabolismus bzw. das Knochenremodeling durch Fettsäuren nicht beeinflusst wurde.

Die Infektion mit *P. gingivalis* rief ebenso unterschiedlichste Tendenzen bei den Markern des Knochenmetabolismus hervor. Der Vollständigkeit halber sollte jedoch erwähnt werden, dass die Gruppen mit den deutlichsten Schwankungen zwischen Infektion und Placebogruppe ein Zuwachs des Knochenaufbaus aufwiesen (Stärkste Tendenz pro Analyse: CTX: [K] vs. [K+P.g.]; OC: [K] vs. [K+P.g.]; P1NP: [PA+OA] vs. [PA+OA+P.g.]) Hier überwog möglicherweise tendenziell der Knochenaufbau bei Infektion mit *P. gingivalis*, da sich insgesamt mehr bzw. stärkere Tendenzen in diese Richtung fanden. Eine Korrelation zur Diät fand sich allerdings in keinem Fall, überdies konnte die Tendenz statistisch nicht nachgewiesen werden. Das Knochenremodeling wurde auf systemischer Ebene somit bei Normalgewicht weder durch die Fettsäuren noch durch die Infektion signifikant beeinflusst.

6. Diskussion

Bislang wurde in einem vorangegangenen Tierexperiment von Muluke et al. (2016) nachgewiesen, dass bei vorherrschender Adipositas die systemische Inflammation bei der Ernährung mit Palmitinsäure-angereicherter Diät signifikant stärker ausgeprägt war als bei der Ernährung mit Ölsäure-angereicherter Diät oder einer normalen Ernährung.

Die Marker des Knochenremodelings wiesen zudem bei Übergewicht unter der Ernährung mit PA-haltigem Futter signifikant niedrigere Abundanz im Serum auf als bei OA-angereicherter oder normaler Kontrolldiät.

Auch die Ergebnisse weiterer verschiedener *in vitro* und *in vivo* Ansätze diskutieren gleichermaßen den negativen Einfluss von PA, nicht aber von OA auf den Knochenmetabolismus bei Übergewicht (Drosatos-Tampakaki, Drosatos et al. 2014, Alsahli, Kiefhaber et al. 2016).

In einem mit *P. gingivalis* induzierten Parodontitismodell wurde festgestellt, dass bei Adipositas der alveolare Knochenverlust und das systemische TNF- α Level bei der Ernährung mit PA-angereicherter Diät ebenfalls signifikant stärker ausgeprägt waren als bei Kontrolltieren oder isokalorischer OA-angereicherter Diät. Der Anstieg des TNF- α Serumspiegels korrelierte dabei negativ mit der Reduktion der Knochenremodeling Marker im Serum (Muluke, Gold et al. 2016).

Die dieser Dissertation zugrundeliegende Studie wurde in Anlehnung an die Studie von Muluke et al. (2016) durchgeführt und wies zu Vergleichszwecken einen weitestgehend identischen Versuchsaufbau auf. Es wurde auch in der dieser Studie in einem randomisierten 16 - wöchigen Mausmodell eine zu den anderen Diäten jeweils isokalorische Palmitinsäure-, Ölsäure oder Kontrolldiät verabreicht. Nach zusätzlicher fünfwöchiger oraler Infektion mit dem parodontalpathogenen Keim *P. gingivalis* bzw. Placeboinfektion mit PBS, wurden die Auswirkung der verschiedenen Fettsäuren auf den Knochenstoffwechsel und die systemische Inflammationssituation untersucht.

Die Ergebnisse zeigten, dass bei Normalgewicht das Fettsäureprofil der Diät keinen signifikanten Einfluss auf das systemische Inflamationslevel oder das Knochenremodeling hat. Gleiches galt für die durch *P. gingivalis* induzierte parodontale Infektion. Darüber hinaus lagen die Entzündungsparameter der mit *P. gingivalis*-induzierten Parodontitis Gruppe nicht signifikant über dem Level der entsprechenden Placebo Gruppe. Die verschiedenen fettsäurehaltigen Diäten hatten keinen Einfluss auf dieses Ergebnis.

Palmitinsäure induziert bei Normalgewicht keine systemische Inflammation

Die erste Fragestellung dieser Studie bezog sich auf die Auswirkung von Palmitinsäure-, Ölsäure-haltiger bzw. einer daraus kombinierten Diät auf die systemische Inflammation bei normalgewichtigen Individuen.

Bei vorherrschendem Normalgewicht konnte bei keiner Versuchsgruppe TNF- α serologisch nachgewiesen werden und auch die IL-6 Serumlevel wiesen nur basale Konzentrationen (< 15 [pg/ml]) auf. Die IL-6 Konzentrationen entsprechen in etwa den Serumspiegeln anderer C57BL/6 Kontrolltiere verschiedener Studien bzw. liegen sogar unter den Kontrollwerten (Bauza, Miller et al. 2012, Chen, Chen et al. 2014, Yang, He et al. 2015, Yin, Busch et al. 2018). Sie können damit als physiologisch betrachtet werden. Ein leichter jedoch nicht signifikanter Trend in Richtung eines Anstiegs des IL-6 Levels durch die Infektion mit *P. gingivalis* war zu beobachten, dieser zeigt sich jedoch unabhängig von der Diät.

Insgesamt lagen die Inflamationsparameter aller Gruppen, sowohl mit, als auch ohne Infektion mit *P. gingivalis*, auf einem sehr niedrigen basalen Niveau. Von einer systemischen Entzündung kann daher in keinem Fall gesprochen werden, weder in der Placebogruppe, noch in der Parodontitisgruppe oder bei einer der Diätvarianten.

Betrachtet man nun zunächst die Einflüsse verschiedener fettsäurehaltiger Diäten auf die Inflammationssituation, unterscheiden sich diese Ergebnisse klar von den Ergebnissen der Studie von Muluke et al. (2016). Die Ernährung mit PA-haltiger Diät provozierte dort signifikant höhere TNF- α Serumspiegel als bei der Kontrollgruppe oder der Ernährung mit OA-angereicherter Diät (Muluke, Gold et al. 2016). Zudem lag bei Muluke et al (2016) das Basalniveau der systemischen Inflamationsmarker aller Versuchsgruppen insgesamt deutlich höher als in der Studie, auf der diese Dissertation basiert.

Für die Interpretation dieser unterschiedlichen Ergebnisse ist noch einmal der essenzielle Unterschied zwischen den beiden Studien, das Gewicht betreffend, hervorzuheben. Die Fragestellung konzentrierte sich auf die Effekte der Fettsäuren bei Normalgewicht, demnach lagen die Gewichte aller Gruppen, inklusive die der PA-Diätgruppe, auch in einem durchschnittlichen Normalbereich (Drosatos-Tampakaki, Drosatos et al. 2014, Li, Lu et al. 2015). Im Gegensatz dazu wurden in der Studie von Muluke et al. (2016) die Auswirkungen bei vorliegender Adipositas eruiert. Naheliegender ist daher, dass die unterschiedlichen Ergebnisse bei sonst vergleichbarem Versuchsaufbau durch ebenjenen Gewichtsunterschied hervorgerufen werden.

In den Fettsäure-Diätgruppen zeigte sich der Gewichtsunterschied dabei besonders ausgeprägt. Hier betrug die Gewichtsdifferenz im Vergleich zur vorliegenden Studie im Durchschnitt ≥ 10 g, was einem prozentualen Unterschied von ca. 28 - 36 % (PA- bzw. OA-Gruppen) gleichkommt. Auch die Kontrollgruppe wog bei Muluke et al. (2016) schon ca. 20 % und damit deutlich mehr als die Kontrolltiere dieser Studie (Muluke, Gold et al. 2016). Daraus lässt sich die Theorie ableiten, dass v.a. die gesättigte Palmitinsäure im synergistischen Zusammenhang mit Adipositas die systemischen Inflammationsmarker stärker negativ beeinflusst als bei Normalgewicht.

Eine Erklärung für die erhöhten Basallevel systemischer Inflammationsmarker bei Adipositas, verglichen mit Normalgewicht in dieser Studie, wäre, dass Adipositas bereits mit einer basalen Entzündungssituation vergesellschaftet ist (Cox, West et al. 2015). Wie in Kapitel 2.3.5 erläutert, werden bei Übergewicht und Adipositas im Fettgewebe, bzw. von im Fettgewebe angesiedelten Makrophagen, vermehrt proinflammatorische Zytokine wie TNF- α und IL-6 ausgeschüttet (Weisberg, McCann et al. 2003, Boden 2011, Glass and Olefsky 2012, Silva Figueiredo, Carla Inada et al. 2017).

Die erhöhten Inflammationslevel bei Adipositas traten in der Studie von Muluke et al. (2016) dabei besonders in Kombination mit der PA-haltigen Ernährung auf. Die OA-haltige Diätgruppe wies ein ähnliches TNF- α Level wie die normale Kontrollernährung auf, das Inflammationslevel lag hier deutlich geringer (Muluke, Gold et al. 2016). In der vorliegenden Studie wiesen hingegen bei Normalgewicht auch die Gruppen mit PA-haltiger Diät keine erhöhten Inflammationslevel auf. Sie lag im Gegensatz zu den Ergebnissen von Muluke et al. (2016) auf einem Level mit der OA- und der Kontrolldiät.

In Bezug auf die oben genannte Theorie könnte sich ein weiterer Erklärungsansatz möglicherweise auf einem biochemischen Wirkmechanismus, basierend auf einem erhöhten Plasmalevel freier Fettsäuren, gründen. Ein Symptom bei Übergewicht bzw. Adipositas ist der erhöhte Spiegel freier Fettsäuren (FFS) im Blut (Oh, Sul et al. 2010, Ebbert and Jensen 2013, Tracy, Bergqvist et al. 2013). FFS werden als Sekretionsprodukt der Adipozyten bei Übergewicht vermehrt aus Triacylglyceriden freigesetzt (Lau, Dhillon et al. 2005, Oh, Sul et al. 2010). Diese FFS wirken wiederum als Signalmoleküle und können über Aktivierung proinflammatorischer Signalwege zur Ausschüttung von IL-6 und TNF- α führen (Nguyen, Favellyukis et al. 2007, Gupta, Knight et al. 2012). Hierbei wird vor allem den gesättigten FFS wie Palmitinsäure eine starke proinflammatorische Wirkung zugeschrieben (Glass and Olefsky 2012).

Bei den adipösen Tieren von Muluke et al. (2016) wurden nach der Ernährung mit PA-angereicherter Diät in der Tat erhöhte Serumwerte freier Palmitinsäure gemessen (Muluke, Gold et al. 2016). Vermutlich hatten im Gegensatz dazu die normalgewichtigen Tiere dieser Studie trotz der PA-haltigen Diät einen physiologischen oder zumindest deutlich geringeren Serumspiegel freier Fettsäuren als die adipösen Tiere, da erhöhte Serumspiegel wie bereits erläutert primär mit Übergewicht und nicht mit Normalgewicht assoziiert sind. Über diesen FFS-vermittelten Signalweg ist somit bei Normalgewicht keine vermehrte Ausschüttung von TNF- α bzw. IL-6 zu erwarten.

Die negativen Effekte von Ölsäure-angereicherter Ernährung auf die systemische Inflammation bei Übergewicht sind nicht so gravierend, wie bei PA-angereicherter Diät (Muluke, Gold et al. 2016). Eine Ursache für die verbesserte Reaktion auf ungesättigte Ölsäure bei Adipositas könnte die durch Ölsäure geförderte Triacylglyceridbildung darstellen, welche eine Inhibition proinflammatorischer Reaktionen bewirkt (Drosatos-Tampakaki, Drosatos et al. 2014). Hier zeigt sich erneut, dass bei Übergewicht vor allem die FFS im Blut und weniger der reine Verzehr negative Auswirkungen haben.

In der vorliegenden Studie provozierte bei Normalgewicht auch die PA-reiche Ernährung keine messbare Inflammation. Bei Ernährung mit Ölsäure oder einem Ernährungswechsel von PA auf OA konnte daher in diesem Experiment im Vergleich zu der ohnehin schon unauffälligen Entzündungssituation bei PA keine signifikante Verbesserung bzw. Prävention dargestellt werden. Der proinflammatorische Effekt der Palmitinsäure und antiinflammatorische Effekt der Ölsäure kommen möglicherweise erst unter Übergewicht zum Tragen.

Die Inflamationsprävention durch Triglyceridbildung, im Gegensatz zur Inflamationsinduktion bei Anwesenheit freier Fettsäuren, ist ein weiterer Hinweis darauf, dass die Palmitinsäure vor allem als freie Fettsäure bei Adipositas die systemische Inflammation bedingt und entsprechend bei Normalgewicht keine derartige Gesundheitsgefährdung darstellt.

Die inflammatorische Reaktion auf die orale Infektion mit *P. gingivalis* wird durch Palmitinsäure bei Normalgewicht nicht verstärkt

Die zweite Fragestellung dieser Studie befasste sich mit den Auswirkungen der verschiedenen Diäten unter Infektion mit *P. gingivalis* im Vergleich zu der Placeboinfektion. Auch in diesem

Aspekt unterschieden sich die Ergebnisse bei Normalgewicht von den Ergebnissen der Tierversuche von Muluke et al. (2016) bei Adipositas.

Bei Normalgewicht lag der TNF- α Serumspiegel in dieser Studie bei allen Infektionsgruppen unter der Nachweisgrenze, die IL-6 Serumkonzentration zeigte nur einen leichten, jedoch nicht signifikanten Trend zum gesteigerten IL-6 Serumspiegel nach oraler Infektion. Der Trend war bei fast allen Diätvarianten vergleichbar ausgeprägt.

Durch PA-reiche Ernährung und vorherrschender Adipositas wurde bei Muluke et al. (2016) das TNF- α Level jedoch besonders stark durch die Kombination aus oraler Infektion und PA-angereicherter Diät erhöht, stärker als durch die isolierte Diätengabe. Ebenso zeigte sich bei Muluke et al. (2016) bei allen Diätgruppen ein signifikanter Anstieg der Inflammation nach oraler Infektion. Ähnliche Ergebnisse liefert eine murine Studie von Li et al. (2015). Hier wurde bei Tieren, die nach Fütterung mit einer PA-basierten Hochfettdiät Adipositas und erhöhte Plasmalipide entwickelten, durch Infektion mit LPS eine parodontale Infektion induziert. Auch hier fand sich eine erhöhte Ausschüttung von Inflammationsmetaboliten unter PA-haltiger Diät bei Adipositas in Kombination mit LPS-induzierter Parodontitis (Li, Lu et al. 2015). Es liegt ebenso die Vermutung nahe, dass die Adipositas zusammen mit erhöhten Plasmalipiden eine essentielle Rolle bei der Reaktion des Immunsystems auf die orale Infektion spielt.

Wiederholt fällt somit der Zusammenhang zwischen erhöhtem Palmitinsäure-Spiegel im Blut und parodontaler Infektion auf. Dazu eruierten Shikama und Kudo et al. (2017) bereits einen möglichen Wirkmechanismus, wie unter Übergewicht durch erhöhte PA-Level im Blut Parodontitis gefördert werden könnte. Ihre Theorie besagt, dass erhöhte PA-Level die Zytokinproduktion anregen und dadurch sowohl die *P. gingivalis* induzierte Zytokinproduktion gingivaler Fibroblasten als auch den *P.g.* induzierten Knochenabbau verstärken könnten. Auch die Expression von Adhäsionsmolekülen könnte durch PA gefördert werden und somit über eine erleichterte Migration von PMN und Monozyten ins Epithel die parodontale Destruktion fördern (Shikama, Kudo et al. 2017). Auch in anderen murinen Studien zeichnet sich die Beobachtung ab, dass durch einen unterschwelligen bzw. basalen Inflammationsstatus die Exazerbation verschiedener Krankheiten begünstigt werden kann (Geng, Chen et al. 2016).

Die mögliche Verbindung zwischen den Faktoren PA-haltige Ernährung, der Infektion mit *P. g.*, einem Voranschreiten der Parodontitis im Zusammenhang mit dem erhöhten Inflammationslevel und dem Übergewicht ist anhand dieser Beobachtungen zur Übersicht in Abb. 20 in einem Regelkreis zusammengefasst. Die Ausgangssituation ist hierbei die

Kombination aus Übergewicht, hoher PA Aufnahme und *P.g.* im oralen Mikrobiom. Aus der Aufnahme von PA mit der Nahrung resultiert ein hoher PA-FFS-Spiegel im Blut. Dies bedingt wiederum sowohl die verbesserte Etablierung des *P.g.* als auch eine verstärkte Zytokinproduktion und somit eine verschlechterte Inflammationssituation, welche wiederum den Knochenabbau fördert und zusätzlich erneut mehr TAG zu FFS abbaut.

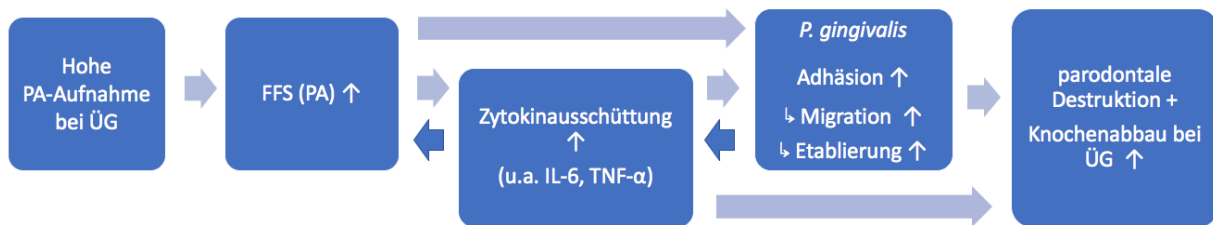


Abb. 20 Voranschreiten der parodontalen Destruktion durch erhöhte PA-Aufnahme bei Übergewicht

Durch PA-Konsum bei Übergewicht (ÜG) sammeln sich vermehrt FFS im Blut, welche eine gesteigerte Zytokinausschüttung und somit direkt und indirekt die Förderung der *P.g.* Etablierung und letzten Endes der parodontalen Destruktion zur Folge haben.

Um auf die eingangs erwähnte Theorie von Meyle und Chapple (2015) in Bezug auf eine Balance zwischen Wirtsabwehr und Keim zurück zu kommen, lässt sich folgende Vermutung äußern: Möglicherweise weist der Wirt durch die Provokation einer unterschwelligen Inflammationssituation durch Adipositas und erhöhter PA-Blutlevel eine gesteigerte Prädisposition auf, bei der es nach zusätzlicher Belastung mit *P. g.* zu einer Verschiebung der Balance zwischen Wirtsantwort und Bakterien kommt. Die Folge wäre somit eine schnellere Etablierung, Exazerbation oder Progression der Parodontitis, wohingegen sich bei Normalgewicht die Wirtsantwort im Gleichgewicht befindet und die parodontale Infektion sich trotz PA-haltiger Diät nicht in einem stärkeren Maße etablieren kann.

Es besteht die Möglichkeit, dass in dem vorliegenden Versuch eine lokale Inflammation der Gingiva bzw. des Parodonts vorlag, diese jedoch nicht ausreichend ausgeprägt war, um eine serologisch nachweisbare systemische Inflammation zu provozieren und sich somit nicht in den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit darstellen ließ. Eine fundierte Aussage über eine lokale proinflammatorische Wirkung von Palmitinsäure bei Infektion mit *P. gingivalis* unter Normalgewicht lässt sich daher mit den vorliegenden Daten nicht treffen und muss noch gesondert untersucht werden.

Palmitinsäure und Infektion mit *P. gingivalis* haben bei Normalgewicht keine signifikante Auswirkung auf das systemische Knochenremodeling

Eine weitere Fragestellung der Studie betraf die Beeinflussung des Knochenstoffwechsels durch gesättigte Palmitinsäure bzw. ungesättigte Ölsäure und orale Infektion mit *P. gingivalis*. Es sollte untersucht werden, ob und inwiefern die verschiedenen Fettsäuren das Knochenremodeling beeinflussen und wie sich die Fettsäuren auf den Knochenstoffwechsel bei parodontaler Infektion auswirken.

Die aktuelle Studienlage deutet darauf hin, dass gesättigte Fettsäuren einen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel haben (Drosatos-Tampakaki, Drosatos et al. 2014). Ihnen wird ein hemmender Einfluss auf Osteoblasten und eine Förderung der Osteoklastogenese bzw. Osteoklastenaktivität zugeschrieben (Harasymowicz, Dicks et al. 2019). Vor allem Palmitinsäure bewirkt bei vorherrschendem Übergewicht eine Beeinträchtigung des Knochenremodelings *in vivo* und eine Reduktion der Osteoblastenaktivität *in vitro* (Alsahli, Kiefhaber et al. 2016, Muluke, Gold et al. 2016), sowie die Stimulierung der Osteoklastogenese (Harasymowicz, Dicks et al. 2019).

Verschiedene biochemische Zusammenhänge werden in der Literatur als Ursache dafür diskutiert. Ein möglicher Wirkmechanismus ist die Aktivierung proinflammatorischer Signalwege durch Palmitinsäure (Glass and Olefsky 2012), welche, wie unter 2.2.3 beschrieben, TNF- α - und RANKL-moduliert den Knochenabbau fördern (Kobayashi, Takahashi et al. 2000, Lam, Takeshita et al. 2000, Pacios, Kang et al. 2012, Luo, Li et al. 2018). Auch IL-6 steht dabei im Zusammenhang zu inflammationsinduziertem und Parodontitis-assoziiertem Knochenabbau (Pischon, Heng et al. 2007, Pacios, Kang et al. 2012, Neumann, Muller-Ladner et al. 2014).

Von Muluke et al. (2016) konnte nachgewiesen werden, dass bei Adipositas und PA-angereicherter Diät die Knochenremodeling Marker OC, P1NP und CTX im Serum signifikant reduziert vorliegen. Es fand sich dabei auch eine negative Korrelation zwischen den Serumwerten von TNF- α und den Remodeling Markern (Muluke, Gold et al. 2016).

Im Gegensatz dazu hatte die PA-haltige Diät bei Normalgewicht zum finalen Zeitpunkt in dem dieser Arbeit zugrundeliegenden Versuch keinen nachweisbaren Einfluss auf den Knochenstoffwechsel. Es herrschte bei allen Diätformen ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen Knochenformation und -resorption, wobei weder die Formations-Marker OC und P1NP noch der Resorptions-Marker CTX durch die Diäten signifikant beeinflusst wurden. Die TNF- α und IL-6 Spiegel lagen bei allen Diäten im Gegensatz zu den Ergebnissen von

Muluke et al. (2016) auf einem basalen Niveau. Bei ausgewachsenen Tieren ist demnach anhand dieser neuen Ergebnisse keine inflammationsvermittelte Modulation des Remodelings durch PA oder eine andere in diesem Versuch untersuchte Diätvariante bei Normalgewicht nachzuweisen. Die bei vorherrschender Adipositas vor allem unter PA-haltiger Diät hervorgerufene Beeinträchtigung des Remodelings zeigt sich bei Normalgewicht nicht. Es besteht die Möglichkeit, dass eine Modulation des Remodelings bzw. des Knochenstoffwechsels somit nicht allein durch den Verzehr von PA bei Normalgewicht, sondern erst durch die adipösen Voraussetzungen zum Tragen kommen.

Bei adipösen Tieren zeigte Ölsäure schwächere Auswirkungen als Palmitinsäure, sowohl auf die Knochenremodeling Marker, als auch auf das TNF- α Level (Muluke, Gold et al. 2016). Eine Beeinflussung des Remodelings durch Ölsäure bei normalgewichtigen Tieren ist in diesem weiterführenden Versuch ebenso wie durch eine kombinierte PA- und OA-haltige Diät nicht nachzuweisen, der niedrige TNF- α und IL-6 Spiegel könnte hierbei erneut ein ausschlaggebender Faktor sein. Möglicherweise werden auch differenzierte Auswirkungen der Fettsäuresättigung erst bei Übergewicht deutlicher sichtbar.

Ein weiterer in der Literatur diskutierter Mechanismus, über den PA den Knochenmetabolismus beeinflussen kann, beruht auf der Knochenabbau-fördernden Wirkung freier Palmitinsäure auf Zellen des Knochenstoffwechsels. *In vitro* konnte nachgewiesen werden, dass PA einen lipotoxischen Effekt auf Osteoblasten hat und ihre Apoptose induzieren kann, während die Differenzierung von Osteoklasten angeregt wurde (Gunaratnam, Vidal et al. 2013, Alsahli, Kiefhaber et al. 2016, Harasymowicz, Dicks et al. 2019). Interessanterweise konnte durch Ölsäure der Palmitinsäure-induzierte Knochenabbau inhibiert werden (Harasymowicz, Dicks et al. 2019). In Zellkulturen wurde beobachtet, dass eine Ursache dieser lipotoxischen Wirkung durch die gesteigerte Ceramidsynthese vermittelt werden könnte. Palmitinsäure stellt hierbei ein wichtiges Substrat dar und aus PA synthetisierte Ceramide können möglicherweise Osteoblastendysfunktionen auslösen (Alsahli, Kiefhaber et al. 2016). Ob *in vivo* bei Übergewicht über diesen Signalweg tatsächlich eine Beeinträchtigung stattfindet, muss noch weiter untersucht werden. Dieser Wirkmechanismus setzt im *in vivo* Modell vergleichbar hohe Konzentrationen freier Palmitinsäure im Plasma voraus, wie sie in Zellkulturexperimenten verwendet werden. Durch die geförderte Freisetzung könnten die FFS bei Adipositas möglicherweise in ausreichend hohen Konzentrationen im Plasma vorliegen, bei Normalgewicht ist dies in dem Maße allerdings unwahrscheinlich. Auch wenn man also von einer Wirkung der Palmitinsäure über einen lipotoxischen Signalweg ausgehen würde, wäre es weiterhin naheliegend, dass vor allem das

für erhöhte Plasmalipidlevel ursächliche Übergewicht in Kombination mit Palmitinsäure und nicht allein die Palmitinsäure verantwortlich für einen gestörten Knochenstoffwechsel ist.

Da bei Normalgewicht die Palmitinsäure weder über den TNF- α vermittelten Signalweg noch über die Lipotoxizität Auswirkungen zeigte, bei Adipositas hingegen schon, ist dies erneut ein Hinweis auf einen synergistischen Effekt von Adipositas und PA, der den Knochenstoffwechsel moduliert. Der protektive Effekt von OA bei Adipositas hingegen konnte ohne die durch PA verursachten Schäden bei Normalgewicht nicht dargestellt werden.

Eine letzte Fragestellung zielte neben den isolierten Auswirkung der verschiedenen Fettsäuren vor allem auf die Modulation der Knochenhomöostase bei Infektion mit *P. gingivalis* ab. Darüber hinaus wurde das Zusammenspiel aus Fettsäuren in der Diät mit der oralen Infektion untersucht. Bei Normalgewicht fand sich dabei kein nachweisbarer Einfluss, weder durch die Infektion allein, noch durch Kombination aus fettsäurehaltiger Diät und Infektion. Bei Übergewicht in der Studie von Muluke et al. (2016) hingegen verursachte die Infektion mit *P. gingivalis* einen signifikant reduzierten Knochenmetabolismus. Dies galt sowohl für die Kontrollgruppe, als auch noch ausgeprägter bei PA-haltiger Diät. Die OA-haltige Diät beeinflusste den Knochenmetabolismus weniger ausgeprägt als die PA-haltige Diät (Muluke, Gold et al. 2016).

Im durchgeführten Versuch lagen im Gegensatz zur Studie von Muluke et al. (2016) bei allen *P.g.*- oder Placebo-infizierten Diätgruppen die TNF- α und Il-6 Level basal. Während bei den adipösen Tieren durch Infektion sowohl die Knochenremodelingmarker als auch der Inflammationsmarker bei der Kombination aus PA-Diät und Infektion noch stärker beeinflusst wurden als die jeweilige Kondition isoliert, wurde bei Normalgewicht auch in Kombination aus PA-Diät und *P. gingivalis* keine Veränderung der Remodeling- oder Inflammationsmarker provoziert. Die isolierte Ernährung mit PA-haltiger Diät provozierte bei Adipositas zwar nur ein reduziertes Knochenremodeling und noch keinen signifikant stärkeren Knochenabbau, nach Infektion mit *P.g.* zeigte sich jedoch in der PA-Diätgruppe ein um fast 20 % stärkerer Knochenabbau als bei der Kontroll- oder OA-Diät (Muluke, Gold et al. 2016). Damit zeigten die beiden Faktoren (PA-Diät und *P.g.*-Infektion), welche bei Adipositas die stärksten negativen Auswirkungen auf den Knochenstoffwechsel aufwiesen, bei Normalgewicht keinen Effekt. Es liegt damit wiederum eine durch Adipositas stark geförderte, entzündungsvermittelte Beeinträchtigung des Knochenstoffwechsels durch PA bei Infektion mit *P. gingivalis* nahe, welche sich bei Normalgewicht nicht nachweisbar ausprägt. Die

protektiven Eigenschaften von Ölsäure lassen sich auch hier ohne einen entstandenen Knochenschaden nicht darstellen.

Zusammenfassend führt der Vergleich der Ergebnisse bei unterschiedlichen Gewichtssituationen zur Schlussfolgerung, dass womöglich ein synergistischer Zusammenhang zwischen PA-haltiger Nahrung und Adipositas bei Inflammationsstatus und Parodontitis-assoziiertem Knochenabbau besteht. Nicht allein also die Ernährung mit gesättigter Palmitinsäure bei Normalgewicht, sondern v.a. die Palmitinsäure-induzierte Adipositas in Kombination mit der induzierten parodontalen Infektion könnte der Auslöser für die Störung des Knochenstoffwechsels sein. Ein möglicher Wirkmechanismus wäre daher Folgender: bei vorherrschendem Übergewicht wird v.a. durch die PA-haltige Diät ein erhöhter Serumlevel FFS verursacht, welche eine systemische Inflammation provoziert, was daraus folgend eine gestörte Knochenhomöostase bedingt und so letzten Endes die parodontale Destruktion modulieren könnte. In zukünftigen Studien sollte diese Theorie noch detaillierter untersucht werden.

Methodische Diskussion

Da in dieser Studie mit Hilfe der Serumanalysen die systemische Inflammation als Reaktion auf die Infektion mit *P. gingivalis* nicht sicher nachgewiesen werden konnten, besteht unter Umständen auch die Möglichkeit, dass die Methodik der Infektion nicht so erfolgreich war wie erhofft. Da es sich bei *P. gingivalis* um einen anaeroben Keim handelt, reduziert sich außerhalb des Brutschrankes die Keimzahl kontinuierlich. Obwohl umfangreiche Vorkehrungen getroffen wurden, um das Absterben zu verzögern, war die Trägersuspension während der Infektion unvermeidlich einige Zeit dem Luftsauerstoff ausgesetzt. Hinzu kam, dass die Tiere häufig große Anteile der applizierten Lösung direkt hinunterschluckten, und diese sich somit eventuell nicht vollständig im Mundraum verteilen konnte. Um dies in Zukunft zu vermeiden, sollte auf eine möglichst kurze Transport- und Infektionsdauer und maximal präzise Applikation ins Vestibulum geachtet werden.

Des Weiteren wurde die Euthanasie aus Gründen der Vergleichbarkeit wie bei Mulukey et al. (2016) erst ca. eine Woche nach der letzten Infektion vorgenommen. Falls sich der Keim nicht nachhaltig und stabil genug etabliert hatte, könnte sich die Keimzahl im murinen Mundraum in dem entstandenen Zeitfenster wieder stark reduziert haben. Es wäre möglich, dass die initiierte Infektion somit nicht schwerwiegend genug war, um eine nachhaltige systemische Inflammation zu provozieren und nur temporär vorlag. Denn schon

innerhalb von 24 Stunden nach stattgefundener systemischer Inflammation und damit stark erhöhter Expression, kann das IL-6 Plasmalevel auf ein normales Maß reguliert werden (Endler, Marsik et al. 2004). Auch die Regulation von TNF- α dauert auf Proteinebene nur wenige Stunden (Sullivan, Reddy et al. 2007). Selbst eine systemische inflammatorische Reaktion könnte sich innerhalb der Woche nach Ende der Infektion möglicherweise wieder von selbst reguliert haben bzw. auf eine lokale Inflammation zurückgegangen sein, welche nicht mehr im Serum nachzuweisen war, insbesondere, wenn die parodontale Infektion nicht so stark ausgeprägt war.

Da insgesamt ein leichter Trend zu höheren IL-6 Leveln bei *P. gingivalis* Gruppen zu verzeichnen war, liegt jedoch die Vermutung nahe, dass die Infektion in einem gewissen Rahmen erfolgreich war.

Um diesen potentiellen Störfaktor trotzdem auszuschließen, sollte in Zukunft auf die Durchführung der Euthanasie mit einem geringeren Zeitabstand zur letzten Infektion geachtet werden. Darüber hinaus wäre es möglicherweise von Vorteil, nicht nur mit einer Monokultur *P. gingivalis* zu infizieren, sondern eine Kombination verschiedener Leitkeime zu applizieren, um die Etablierung der parodontalen Infektion zu verbessern.

Obwohl der Versuchsaufbau nahezu identisch mit der Studie von Muluke et al. (2016) aufgebaut war, entstand ein deutlicher Unterschied bezüglich des Gewichtes. Im Unterschied zu der Studie von Muluke et al. (2016) war die hochfetthaltige Ernährung der durchgeführten Studie weder bei der Palmitinsäure- noch bei der Ölsäurediät mit Adipositas assoziiert. Der Grund, aus dem die Versuchstiere bei Muluke adipös waren und in diesem weiterführenden Versuch normalgewichtig, ist bislang noch nicht final geklärt. Obwohl beide Versuche mit C57BL/6J Mäusen durchgeführt wurden, stammten sie aufgrund der geografischen Entfernung der Arbeitsgruppen nicht vom selben Züchter (Züchtung in Amerika bzw. Deutschland). Somit können sich trotz ursprünglich gleicher Genlinien unterschiedliche Mutationen und Ausprägungen in den Populationen entwickelt haben. Auch Unterschiede im Bewegungsverhalten, welches die Populationen der beiden Studien aufgewiesen haben könnten, könnte das Gewicht beeinflusst haben. Durch mehr Bewegung ändert sich die Energiebilanz, was wiederum dazu führen kann, dass die Gewichtszunahme ausbleibt. Die Versuchstiere könnten durch andere Tiere oder Menschen im Versuchsraum in ihren Ruhephasen gestört worden bzw. zu Aktivität angeregt worden sein. Da jedoch Genmutationen oder das Aktivitätsmuster der Tiere in keinem der beiden Versuche analysiert wurden, kann dies nur als Hypothese aufgestellt und nicht verifiziert werden.

In diesem Zusammenhang sollte noch auf den Gesamtfettgehalt der Diäten eingegangen werden. Das Studiendesign durchgeführten Studie und der Studie von Mulukey et al. (2016) umfasste eine Ernährung mit 4,1 % Fettanteil bei der Kontrollgruppe bzw. 8,6 % Fettanteil in den Fettsäure-Gruppen. Dies entspricht einem prozentualen Anteil der Gesamt-kcal von 11 % bei der Kontrolldiät und 21 % bei der fettsäurehaltigen Diät. Im Vergleich dazu sind die Tiere in vielen Adipositas-assoziierten Mausmodellen hingegen einem Fettanteil von 40 – 60 % ausgesetzt (Luo, Miranda-Garcia et al. 2016). Der Umfang, in dem die Tiere demnach Fettsäuren in der Ernährung ausgesetzt waren, ist somit im Vergleich zu anderen Versuchsaufbauten niedriger angesetzt. Bei der Planung der Studien wurde bewusst darauf verzichtet, einen zu hohen Fettanteil im Futter zu verwenden, um die Versuchsbedingungen möglichst gut an die (menschliche) westliche Ernährung anzulehnen. Es sollten darüber hinaus Komorbiditäten der Adipositas wie z.B. Diabetes mellitus, welche ebenfalls Auswirkung auf parodontale Geschehnisse haben, vorgebeugt werden. Das Ergebnis ist trotz Anlehnung an die westliche Ernährung nicht ohne weiteres auf eine Ernährungsweise zu übertragen, in der ein deutlich höherer Anteil des Kalorienbedarfs durch Fett gedeckt wird. Dass Palmitinsäure bei Normalgewicht keinen negativen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel bei parodontaler Infektion hat, kann bei größeren Mengen bzw. Prozentanteilen auch bei Normalgewicht nicht ausgeschlossen werden. Dies sollte bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden.

7. Schlussfolgerungen

Die Ernährung mit PA-haltiger Diät hat bei Normalgewicht im Gegensatz zu adipösen Voraussetzungen keinen nachweisbaren Einfluss auf die systemische Inflammation oder den Knochenstoffwechsel. Die systemische Inflammation wird auch nach Infektion mit *P. gingivalis*, einem typischen Erreger bei parodontalen Infektionen, bei Normalgewicht nicht durch PA in der Ernährung verstärkt. OA-haltige Diät verhält sich bei Normalgewicht vergleichbar zu PA-Diät, sowohl hinsichtlich des Knochenstoffwechsels, als auch der inflammatorischen Situation. Ölsäurediät bzw. die Ernährungsumstellung von PA- auf OA-Diät zeigt keinen protektiven Effekt, den Knochenstoffwechsel oder die systemische Inflammation betreffend. Damit ist es sehr wahrscheinlich, dass die Beeinflussung des Knochenstoffwechsels und die Provokation einer Inflammation durch PA in der vorangegangenen Studie von Muluke et al. (Muluke, Gold et al. 2016) Folge der adipösen Voraussetzungen sind. Durch die Adipositas wird womöglich ein TNF- α oder FS-vermittelter Signalweg induziert, der den Knochenmetabolismus beeinträchtigt und die Reaktion des Gewebes nach parodontaler Infektion mit *P. gingivalis* verstärkt. Auch ein protektiver Effekt von OA gegen die Beeinträchtigung des Knochenmetabolismus prägt sich womöglich erst bei Adipositas aus. Somit hat die Sättigung der Fettsäure bei Normalgewicht keinen unmittelbaren Einfluss auf die Inflammation und den Knochenstoffwechsel bei parodontaler Infektion. Die möglichen Langzeitschäden einer fettsäurereichen PA-Diät sind auch bei Normalgewicht nicht auszuschließen und sollten daher Gegenstand weiterer Studien sein. Diese Arbeit ist limitiert auf systemische Parameter. Weitere Untersuchungen in Hinblick auf den lokalen Knochenstoffwechsel sind sinnvoll.

PA ist die häufigste gesättigte Fettsäure in der westlichen Ernährung. Zusammen mit dem Gewichtstrend, hin zu Übergewicht und Adipositas, ist sie ein potentieller Risikofaktor für das Voranschreiten einer parodontalen Läsion. Bei Normalgewicht prägt sich PA allerdings nicht als unmittelbares Risiko aus. Somit ist Normalgewicht besonders im Zusammenhang mit der westlichen Ernährung nicht nur der Allgemeingesundheit, sondern auch der parodontalen Gesundheit zuträglich. Da die Parodontitisprävalenz im hohen Alter nach wie vor sehr hoch ist und die Lebenserwartung weiterhin ansteigt, wird die Prävention und Therapie parodontaler Erkrankungen auch in Zukunft ein bedeutender Aspekt der Zahnmedizin darstellen. Aus diesem Grund ist es ausgesprochen wichtig, Präventions- und Therapiemaßnahmen weiter zu examinieren und zu optimieren. Normalgewicht zu halten bzw. zu erlangen wäre beispielsweise eine Form der Prävention parodontaler Erkrankungen, über welche die Patienten von Zahnärzten aufgeklärt werden sollten.

8. Literatur- und Quellenverzeichnis

Allali, F., M. Breban, R. Porcher, J. F. Maillefert, M. Dougados and C. Roux (2003). "Increase in bone mineral density of patients with spondyloarthritis treated with anti-tumour necrosis factor alpha." Ann Rheum Dis **62**(4): 347-349.

Alsahli, A., K. Kieffhaber, T. Gold, M. Muluke, H. Jiang, S. Cremers and U. Schulze-Spate (2016). "Palmitic Acid Reduces Circulating Bone Formation Markers in Obese Animals and Impairs Osteoblast Activity via C16-Ceramide Accumulation." Calcif Tissue Int **98**(5): 511-519.

Amaechi, B. T., N. Porteous, K. Ramalingam, P. K. Mensinkai, R. A. Ccahuana Vasquez, A. Sadeghpour and T. Nakamoto (2013). "Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine." Caries Res **47**(5): 399-405.

American Academy of Periodontology (1999). "The pathogenesis of periodontal diseases." J Periodontol **70**(4): 457-470.

American Academy of Periodontology, R. S. a. T. C. o. t. (2001). "Treatment of plaque-induced gingivitis, chronic periodontitis, and other clinical conditions." J Periodontol **72**(12): 1790-1800.

Armitage, G. C. (1999). "Development of a classification system for periodontal diseases and conditions." Ann Periodontol **4**(1): 1-6.

Aung, W. P., E. Bjertness, A. S. Htet, H. Stigum, V. Chongsuvivatwong, P. P. Soe and M. K. R. Kjollesdal (2018). "Fatty Acid Profiles of Various Vegetable Oils and the Association between the Use of Palm Oil vs. Peanut Oil and Risk Factors for Non-Communicable Diseases in Yangon Region, Myanmar." Nutrients **10**(9).

Balaji, A., S. C. Chandrasekaran, D. Subramaniam and A. B. Fernz (2017). "Salivary Interleukin-6 - A pioneering marker for correlating diabetes and chronic periodontitis: A comparative study." Indian J Dent Res **28**(2): 133-137.

Bauza, G., G. Miller, N. Kaseje, Z. Wang, A. Sherburne, S. Agarwal and P. A. Burke (2012). "Injury-induced changes in liver specific transcription factors HNF-1alpha and HNF-4alpha." J Surg Res **175**(2): 298-304.

Baylin, A., E. K. Kabagambe, X. Siles and H. Campos (2002). "Adipose tissue biomarkers of fatty acid intake." Am J Clin Nutr **76**(4): 750-757.

Benakanakere, M., M. Abdolhosseini, K. Hosur, L. S. Finoti and D. F. Kinane (2015). "TLR2 promoter hypermethylation creates innate immune dysbiosis." J Dent Res **94**(1): 183-191.

Bertsch, T., J. Triebel, C. Bollheimer, M. Christ, C. Sieber, K. Fassbender and H. J. Heppner (2015). "C-reactive protein and the acute phase reaction in geriatric patients." Z Gerontol Geriatr **48**(7): 595-600.

Bhupathiraju, S. N., B. Dawson-Hughes, M. T. Hannan, A. H. Lichtenstein and K. L. Tucker (2011). "Centrally located body fat is associated with lower bone mineral density in older Puerto Rican adults." Am J Clin Nutr **94**(4): 1063-1070.

Boden, G. (2011). "Obesity, insulin resistance and free fatty acids." Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes **18**(2): 139-143.

Bodet, C., F. Chandad and D. Grenier (2007). "[Pathogenic potential of Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola and Tannerella forsythia, the red bacterial complex associated with periodontitis]." Pathol Biol (Paris) **55**(3-4): 154-162.

Boskey, A. L., S. Gadaleta, C. Gundberg, S. B. Doty, P. Ducy and G. Karsenty (1998). "Fourier transform infrared microspectroscopic analysis of bones of osteocalcin-deficient mice provides insight into the function of osteocalcin." Bone **23**(3): 187-196.

Boyle, W. J., W. S. Simonet and D. L. Lacey (2003). "Osteoclast differentiation and activation." Nature **423**(6937): 337-342.

Browning, L. M., C. G. Walker, A. P. Mander, A. L. West, J. Madden, J. M. Gambell, S. Young, L. Wang, S. A. Jebb and P. C. Calder (2012). "Incorporation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids into lipid pools when given as supplements providing doses equivalent to typical intakes of oily fish." Am J Clin Nutr **96**(4): 748-758.

Calder, P. C. (2015). "Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance." Biochim Biophys Acta **1851**(4): 469-484.

Caton J, G., G. Armitage, T. Berglundh, I. L. C. Chapple, S. Jepsen, S. K. K, L. M. B, P. N. Papapanou, M. Sanz and S. T. M (2018). "A new classification scheme for periodontal and

peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification." J Clin Periodontol **45 Suppl 20**: S1-S8.

Chapple, I. L. and J. B. Matthews (2007). "The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction." Periodontol 2000 **43**: 160-232.

Chen, L. W., P. H. Chen, C. P. Fung and C. M. Hsu (2014). "Dead bacteria reverse antibiotic-induced host defense impairment in burns." J Am Coll Surg **219**(4): 606-619.

Christen, P., R. Jaussi and R. Benoit (2016). Biochemie und Molekularbiologie eine Einführung in 40 Lerneinheiten. Berlin Heidelberg, Springer Spektrum.

Cicchetti, G., P. G. Allen and M. Glogauer (2002). "Chemotactic signaling pathways in neutrophils: from receptor to actin assembly." Crit Rev Oral Biol Med **13**(3): 220-228.

Cox, A. J., N. P. West and A. W. Cripps (2015). "Obesity, inflammation, and the gut microbiota." Lancet Diabetes Endocrinol **3**(3): 207-215.

Datta, H. K., W. F. Ng, J. A. Walker, S. P. Tuck and S. S. Varanasi (2008). "The cell biology of bone metabolism." J Clin Pathol **61**(5): 577-587.

DeFronzo, R. A. (2010). "Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009." Diabetologia **53**(7): 1270-1287.

Diaz, B., L. Fuentes-Mera, A. Tovar, T. Montiel, L. Massieu, H. G. Martinez-Rodriguez and A. Camacho (2015). "Saturated lipids decrease mitofusin 2 leading to endoplasmic reticulum stress activation and insulin resistance in hypothalamic cells." Brain Res **1627**: 80-89.

Dischereit, G., I. H. Tarner, U. Muller-Ladner and U. Lange (2013). "Infliximab improves bone metabolism and bone mineral density in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis: a prospective 2-year study." Clin Rheumatol **32**(3): 377-381.

Drosatos-Tampakaki, Z., K. Drosatos, Y. Siegelin, S. Gong, S. Khan, T. Van Dyke, I. J. Goldberg, P. C. Schulze and U. Schulze-Spate (2014). "Palmitic acid and DGAT1 deficiency enhance osteoclastogenesis, while oleic acid-induced triglyceride formation prevents it." J Bone Miner Res **29**(5): 1183-1195.

Ebbert, J. O. and M. D. Jensen (2013). "Fat depots, free fatty acids, and dyslipidemia." Nutrients **5**(2): 498-508.

Ehrenthal, J. C., C. Graetz, A. Plaumann, C. E. Dorfer and W. Herzog (2016). "Number of teeth predict depressive symptoms in a longitudinal study on patients with periodontal disease." J Psychosom Res **89**: 16-19.

Elias, A. C. and A. Sheiham (1999). "The relationship between satisfaction with mouth and number, position and condition of teeth: studies in Brazilian adults." J Oral Rehabil **26**(1): 53-71.

Endler, G., C. Marsik, C. Joukhadar, R. Marculescu, F. Mayr, C. Mannhalter, O. F. Wagner and B. Jilma (2004). "The interleukin-6 G(-174)C promoter polymorphism does not determine plasma interleukin-6 concentrations in experimental endotoxemia in humans." Clin Chem **50**(1): 195-200.

Engin, A. B. (2017). "Adipocyte-Macrophage Cross-Talk in Obesity." Adv Exp Med Biol **960**: 327-343.

Eskan, M. A., R. Jotwani, T. Abe, J. Chmelar, J. H. Lim, S. Liang, P. A. Ciero, J. L. Krauss, F. Li, M. Rauner, L. C. Hofbauer, E. Y. Choi, K. J. Chung, A. Hashim, M. A. Curtis, T. Chavakis and G. Hajishengallis (2012). "The leukocyte integrin antagonist Del-1 inhibits IL-17-mediated inflammatory bone loss." Nat Immunol **13**(5): 465-473.

Faber, J., M. Berkhout, A. P. Vos, J. W. Sijben, P. C. Calder, J. Garssen and A. van Helvoort (2011). "Supplementation with a fish oil-enriched, high-protein medical food leads to rapid incorporation of EPA into white blood cells and modulates immune responses within one week in healthy men and women." J Nutr **141**(5): 964-970.

Felsenberg, D. (2001). "[Supporting function of collagen and hydroxyapatite. Structure and function of bone]." Pharm Unserer Zeit **30**(6): 488-494.

Fernandez-Real, J. M., M. Bullo, J. M. Moreno-Navarrete, W. Ricart, E. Ros, R. Estruch and J. Salas-Salvado (2012). "A Mediterranean diet enriched with olive oil is associated with higher serum total osteocalcin levels in elderly men at high cardiovascular risk." J Clin Endocrinol Metab **97**(10): 3792-3798.

Fonolla-Joya, J., R. Reyes-Garcia, A. Garcia-Martin, E. Lopez-Huertas and M. Munoz-Torres (2016). "Daily Intake of Milk Enriched with n-3 Fatty Acids, Oleic Acid, and Calcium

Improves Metabolic and Bone Biomarkers in Postmenopausal Women." J Am Coll Nutr **35**(6): 529-536.

Franks, P. W. and M. I. McCarthy (2016). "Exposing the exposures responsible for type 2 diabetes and obesity." Science **354**(6308): 69-73.

Frencken, J. E., P. Sharma, L. Stenhouse, D. Green, D. Lavery and T. Dietrich (2017). "Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis - a comprehensive review." J Clin Periodontol **44 Suppl 18**: S94-S105.

Garlet, G. P. (2010). "Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints." J Dent Res **89**(12): 1349-1363.

Geng, S., K. Chen, R. Yuan, L. Peng, U. Maitra, N. Diao, C. Chen, Y. Zhang, Y. Hu, C. F. Qi, S. Pierce, W. Ling, H. Xiong and L. Li (2016). "The persistence of low-grade inflammatory monocytes contributes to aggravated atherosclerosis." Nat Commun **7**: 13436.

Glass, C. K. and J. M. Olefsky (2012). "Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance." Cell Metab **15**(5): 635-645.

Graves, D. T., Y. Jiang and C. Genco (2000). "Periodontal disease: bacterial virulence factors, host response and impact on systemic health." Curr Opin Infect Dis **13**(3): 227-232.

Guh, D. P., W. Zhang, N. Bansback, Z. Amarsi, C. L. Birmingham and A. H. Anis (2009). "The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis." BMC Public Health **9**: 88.

Gunaratnam, K., C. Vidal, R. Boadle, C. Thekkedam and G. Duque (2013). "Mechanisms of palmitate-induced cell death in human osteoblasts." Biol Open **2**(12): 1382-1389.

Gupta, S., A. G. Knight, S. Gupta, J. N. Keller and A. J. Bruce-Keller (2012). "Saturated long-chain fatty acids activate inflammatory signaling in astrocytes." J Neurochem **120**(6): 1060-1071.

Hadjidakis, D. J. and Androulakis, II (2006). "Bone remodeling." Ann N Y Acad Sci **1092**: 385-396.

- Haenisch, M., P. M. Treuting, T. Brabb, A. S. Goldstein, K. Berkseth, J. K. Amory and J. Paik (2018). "Pharmacological inhibition of ALDH1A enzymes suppresses weight gain in a mouse model of diet-induced obesity." Obes Res Clin Pract **12**(1): 93-101.
- Haller, D., G. Rimbach and T. Grune (2013). Biofunktionalität der Lebensmittelinhaltsstoffe Elektronische Ressource. Springer-Lehrbuch. Berlin, Heidelberg, Springer Spektrum: Online-Ressource (XVIII, 347 S, digital).
- Harasymowicz, N. S., A. Dicks, C. L. Wu and F. Guilak (2019). "Physiologic and pathologic effects of dietary free fatty acids on cells of the joint." Ann N Y Acad Sci **1440**(1): 36-53.
- Hassel, A. J. (2007). Mundgesundheitsbezogene Lebensqualität älterer Menschen. 2007.
- Hassel, A. J., U. Koke, A. Drechsel, C. Kunz and P. Rammelsberg (2005). "Mundgesundheitsbezogene Lebensqualität älterer Menschen." Zeitschrift für Gerontologie + Geriatrie **38**(5): 342-346.
- Hellwig, E., J. Klimek and T. Attin (2013). Einführung in die Zahnerhaltung Prüfungswissen Kariologie, Endodontologie und Parodontologie; mit ... 63 Tab. Köln, Dt. Zahnärzte-Verl.
- Hierse, L. (2017). "Parodontologie im 21. Jahrhundert." Der Freie Zahnarzt **61**(1): 66-72.
- Hill, J. O., H. R. Wyatt, G. W. Reed and J. C. Peters (2003). "Obesity and the environment: where do we go from here?" Science **299**(5608): 853-855.
- Horn, F. (2009). Biochemie des Menschen Elektronische Ressource das Lehrbuch für das Medizinstudium. Thieme ElectronicBook Library. Stuttgart, Thieme: Online-Ressource (XVIII, 643 S.).
- Hsu, Y. H., S. A. Venners, H. A. Terwedow, Y. Feng, T. Niu, Z. Li, N. Laird, J. D. Brain, S. R. Cummings, M. L. Bouxsein, C. J. Rosen and X. Xu (2006). "Relation of body composition, fat mass, and serum lipids to osteoporotic fractures and bone mineral density in Chinese men and women." Am J Clin Nutr **83**(1): 146-154.
- Jenkinson, H. F. and R. J. Lamont (2005). "Oral microbial communities in sickness and in health." Trends Microbiol **13**(12): 589-595.
- Jiao, Y., M. Hasegawa and N. Inohara (2014). "The Role of Oral Pathobionts in Dysbiosis during Periodontitis Development." J Dent Res **93**(6): 539-546.

- Johannsen, A., C. Susin and A. Gustafsson (2014). "Smoking and inflammation: evidence for a synergistic role in chronic disease." Periodontol 2000 **64**(1): 111-126.
- John, M. T., L. LeResche, T. D. Koepsell, P. Hujoel, D. L. Miglioretti and W. Mischeelis (2003). "Oral health-related quality of life in Germany." Eur J Oral Sci **111**(6): 483-491.
- Jordan, A. R. and W. Mischeelis, Eds. (2016). Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V). IDZ-Materialienreihe, Bd. 35. Köln, Deutscher Zahnärzte Verlag DÄV.
- Juhaimi, F. A., N. Uslu and M. M. Ozcan (2017). "Oil content and fatty acid composition of eggs cooked in drying oven, microwave and pan." J Food Sci Technol **54**(1): 93-97.
- Kassebaum, N. J., E. Bernabe, M. Dahiya, B. Bhandari, C. J. Murray and W. Marcenes (2014). "Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression." J Dent Res **93**(11): 1045-1053.
- Keller, U. (2008). "Fette mit gesättigten Fettsäuren." Schweizer Zeitschrift für Ernährungsmedizin **4**: 2008.
- Kim, J. H., H. J. Choi, M. J. Kim, C. S. Shin and N. H. Cho (2012). "Fat mass is negatively associated with bone mineral content in Koreans." Osteoporos Int **23**(7): 2009-2016.
- Kinane, D. F., P. G. Stathopoulou and P. N. Papapanou (2017). "Periodontal diseases." Nat Rev Dis Primers **3**: 17038.
- Kisely, S., H. Baghaie, R. Lalloo, D. Siskind and N. W. Johnson (2015). "A systematic review and meta-analysis of the association between poor oral health and severe mental illness." Psychosomatic Medicine **77**(1): 83-92.
- Kobayashi, K., N. Takahashi, E. Jimi, N. Udagawa, M. Takami, S. Kotake, N. Nakagawa, M. Kinosaki, K. Yamaguchi, N. Shima, H. Yasuda, T. Morinaga, K. Higashio, T. J. Martin and T. Suda (2000). "Tumor necrosis factor alpha stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK interaction." J Exp Med **191**(2): 275-286.
- Kucukalic-Selimovic, E., A. Valjevac and A. Hadzovic-Dzuvo (2013). "The utility of procollagen type 1 N-terminal propeptide for the bone status assessment in postmenopausal women." Bosn J Basic Med Sci **13**(4): 259-265.

- Lam, J., S. Takeshita, J. E. Barker, O. Kanagawa, F. P. Ross and S. L. Teitelbaum (2000). "TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand." J Clin Invest **106**(12): 1481-1488.
- Lampert, T., L. E. Kroll and A. Dunkelberg (2007). Soziale Ungleichheit der Lebenserwartung in Deutschland. Bonn.
- Lange, U., J. Teichmann, U. Muller-Ladner and J. Strunk (2005). "Increase in bone mineral density of patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF-alpha antibody: a prospective open-label pilot study." Rheumatology (Oxford) **44**(12): 1546-1548.
- Lau, D. C., B. Dhillon, H. Yan, P. E. Szmitko and S. Verma (2005). "Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis." Am J Physiol Heart Circ Physiol **288**(5): H2031-2041.
- Lee, J. Y., K. H. Sohn, S. H. Rhee and D. Hwang (2001). "Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4." J Biol Chem **276**(20): 16683-16689.
- Li, G., F. Zhou, Y. Chen, W. Zhang and N. Wang (2017). "Kukoamine A attenuates insulin resistance and fatty liver through downregulation of Srebp-1c." Biomed Pharmacother **89**: 536-543.
- Li, Y., Z. Lu, X. Zhang, H. Yu, K. L. Kirkwood, M. F. Lopes-Virella and Y. Huang (2015). "Metabolic syndrome exacerbates inflammation and bone loss in periodontitis." J Dent Res **94**(2): 362-370.
- Lu, Y., J. Cheng, L. Chen, C. Li, G. Chen, L. Gui, B. Shen and Q. Zhang (2015). "Endoplasmic reticulum stress involved in high-fat diet and palmitic acid-induced vascular damages and fenofibrate intervention." Biochem Biophys Res Commun **458**(1): 1-7.
- Lu, Z. H., Y. M. Mu, B. A. Wang, X. L. Li, J. M. Lu, J. Y. Li, C. Y. Pan, T. Yanase and H. Nawata (2003). "Saturated free fatty acids, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis by stimulation of ceramide generation in rat testicular Leydig cell." Biochem Biophys Res Commun **303**(4): 1002-1007.

- Luo, G., F. Li, X. Li, Z. G. Wang and B. Zhang (2018). "TNFalpha and RANKL promote osteoclastogenesis by upregulating RANK via the NFkappaB pathway." Mol Med Rep **17**(5): 6605-6611.
- Luo, T., O. Miranda-Garcia, A. Adamson, J. Hamilton-Reeves, D. K. Sullivan, J. M. Kinchen and N. F. Shay (2016). "Consumption of Walnuts in Combination with Other Whole Foods Produces Physiologic, Metabolic, and Gene Expression Changes in Obese C57BL/6J High-Fat-Fed Male Mice." J Nutr **146**(9): 1641-1650.
- Mancini, A., E. Imperlini, E. Nigro, C. Montagnese, A. Daniele, S. Orru and P. Buono (2015). "Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health." Molecules **20**(9): 17339-17361.
- Martinez, L., S. Torres, A. Baulies, C. Alarcon-Vila, M. Elena, G. Fabrias, J. Casas, J. Caballeria, J. C. Fernandez-Checa and C. Garcia-Ruiz (2015). "Myristic acid potentiates palmitic acid-induced lipotoxicity and steatohepatitis associated with lipodystrophy by sustaining de novo ceramide synthesis." Oncotarget **6**(39): 41479-41496.
- Max-Rubner-Institut (2008). Nationale Verzehrsstudie II. Ergebnisbericht, Teil 2, Die bundesweite Befragung zur Ernährung von Jugendlichen und Erwachsenen.
- Mensink, G. B., A. Schienkiewitz, M. Haftenberger, T. Lampert, T. Ziese and C. Scheidt-Nave (2013). "[Overweight and obesity in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]." Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz **56**(5-6): 786-794.
- Meyle, J. (1994). "Leukocyte adhesion deficiency and prepubertal periodontitis." Periodontol **2000** **6**: 26-36.
- Meyle, J. and I. Chapple (2015). "Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis." Periodontol **2000** **69**(1): 7-17.
- Micheelis, W. and U. Schiffner, Eds. (2006). Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). Neue Ergebnisse zu oralen Erkrankungsprävalenzen, Risikogruppen und zum zahnärztlichen Versorgungsgrad in Deutschland 2005. IDZ-Materialienreihe, Bd. 31. Köln, Deutscher Zahnärzte Verl. DÄV.

- Mihara, M., M. Hashizume, H. Yoshida, M. Suzuki and M. Shiina (2012). "IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions." Clin Sci (Lond) **122**(4): 143-159.
- Morales, A., H. Lee, F. M. Goni, R. Kolesnick and J. C. Fernandez-Checa (2007). "Sphingolipids and cell death." Apoptosis **12**(5): 923-939.
- Muluke, M., T. Gold, K. Kiefhaber, A. Al-Sahli, R. Celenti, H. Jiang, S. Cremers, T. Van Dyke and U. Schulze-Spate (2016). "Diet-Induced Obesity and Its Differential Impact on Periodontal Bone Loss." J Dent Res **95**(2): 223-229.
- Mysak, J., S. Podzimek, P. Sommerova, Y. Lyuya-Mi, J. Bartova, T. Janatova, J. Prochazkova and J. Duskova (2014). "Porphyromonas gingivalis: major periodontopathic pathogen overview." J Immunol Res **2014**: 476068.
- N. C. D. Risk Factor Collaboration (2017). "Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults." Lancet **390**(10113): 2627-2642.
- Nestel, P. J., T. Ishikawa and R. B. Goldrick (1978). "Diminished plasma free fatty acid clearance in obese subjects." Metabolism **27**(5): 589-597.
- Neumann, E., U. Muller-Ladner and K. W. Frommer (2014). "[Inflammation and bone metabolism]." Z Rheumatol **73**(4): 342-348.
- Neumann, E. and G. Schett (2007). "[Bone metabolism: molecular mechanisms]." Z Rheumatol **66**(4): 286-289.
- Nguyen, M. T., S. Favelyukis, A. K. Nguyen, D. Reichart, P. A. Scott, A. Jenn, R. Liu-Bryan, C. K. Glass, J. G. Neels and J. M. Olefsky (2007). "A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via Toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways." J Biol Chem **282**(48): 35279-35292.
- Nishida, N., M. Tanaka, N. Hayashi, H. Nagata, T. Takeshita, K. Nakayama, K. Morimoto and S. Shizukuishi (2005). "Determination of smoking and obesity as periodontitis risks using the classification and regression tree method." J Periodontol **76**(6): 923-928.

- Oh, S. R., O. J. Sul, Y. Y. Kim, H. J. Kim, R. Yu, J. H. Suh and H. S. Choi (2010). "Saturated fatty acids enhance osteoclast survival." J Lipid Res **51**(5): 892-899.
- Pacios, S., J. Kang, J. Galicia, K. Gluck, H. Patel, A. Ovaydi-Mandel, S. Petrov, F. Alawi and D. T. Graves (2012). "Diabetes aggravates periodontitis by limiting repair through enhanced inflammation." FASEB J **26**(4): 1423-1430.
- Page, R. C. and K. S. Kornman (1997). "The pathogenesis of human periodontitis: an introduction." Periodontol 2000 **14**: 9-11.
- Page, R. C. and H. E. Schroeder (1976). "Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work." Lab Invest **34**(3): 235-249.
- Parhami, F., Y. Tintut, W. G. Beamer, N. Gharavi, W. Goodman and L. L. Demer (2001). "Atherogenic high-fat diet reduces bone mineralization in mice." J Bone Miner Res **16**(1): 182-188.
- Perdomo, L., N. Beneit, Y. F. Otero, O. Escribano, S. Diaz-Castroverde, A. Gomez-Hernandez and M. Benito (2015). "Protective role of oleic acid against cardiovascular insulin resistance and in the early and late cellular atherosclerotic process." Cardiovasc Diabetol **14**: 75.
- Pihlstrom, B. L., B. S. Michalowicz and N. W. Johnson (2005). "Periodontal diseases." Lancet **366**(9499): 1809-1820.
- Pischon, N., N. Heng, J. P. Bernimoulin, B. M. Kleber, S. N. Willich and T. Pischon (2007). "Obesity, inflammation, and periodontal disease." J Dent Res **86**(5): 400-409.
- Rauf, S., N. Jamil, S. A. Tariq, M. Khan, M. Kausar and Y. Kaya (2017). "Progress in modification of sunflower oil to expand its industrial value." J Sci Food Agric **97**(7): 1997-2006.
- Roberts, F. A. and R. P. Darveau (2015). "Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis." Periodontol 2000 **69**(1): 18-27.

Roberts, H. M., M. R. Ling, R. Insall, G. Kalna, J. Spengler, M. M. Grant and I. L. Chapple (2015). "Impaired neutrophil directional chemotactic accuracy in chronic periodontitis patients." J Clin Periodontol **42**(1): 1-11.

Romero-Corral, A., V. K. Somers, J. Sierra-Johnson, R. J. Thomas, M. L. Collazo-Clavell, J. Korinek, T. G. Allison, J. A. Batsis, F. H. Sert-Kuniyoshi and F. Lopez-Jimenez (2008). "Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population." Int J Obes (Lond) **32**(6): 959-966.

Sadeghi, A., S. S. Seyyed Ebrahimi, A. Golestani and R. Meshkani (2017). "Resveratrol Ameliorates Palmitate-Induced Inflammation in Skeletal Muscle Cells by Attenuating Oxidative Stress and JNK/NF-kappaB Pathway in a SIRT1-Independent Mechanism." J Cell Biochem **118**(9): 2654-2663.

Saito, M., Y. Shimazaki, K. Fukai, M. Furuta, J. Aida, Y. Ando, H. Miyazaki and M. Kambara (2019). "Risk factors for tooth loss in adult Japanese dental patients: 8020 Promotion Foundation Study." J Investig Clin Dent: e12392.

Senba, M., K. Kawai and N. Mori (2012). "Pathogenesis of Metastatic Calcification and Acute Pancreatitis in Adult T-Cell Leukemia under Hypercalcemic State." Leuk Res Treatment **2012**: 128617.

Shikama, Y., Y. Kudo, N. Ishimaru and M. Funaki (2017). "Potential Role of Free Fatty Acids in the Pathogenesis of Periodontitis and Primary Sjogren's Syndrome." Int J Mol Sci **18**(4).

Silva Figueiredo, P., A. Carla Inada, G. Marcelino, C. Maiara Lopes Cardozo, K. de Cassia Freitas, R. de Cassia Avellaneda Guimaraes, A. Pereira de Castro, V. Aragao do Nascimento and P. Aiko Hiane (2017). "Fatty Acids Consumption: The Role Metabolic Aspects Involved in Obesity and Its Associated Disorders." Nutrients **9**(10).

Smith, M., G. J. Seymour and M. P. Cullinan (2010). "Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis." Periodontol 2000 **53**: 45-54.

Stein, G. S., J. B. Lian and T. A. Owen (1990). "Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differentiation." FASEB J **4**(13): 3111-3123.

Strasser, B., A. Spreitzer and P. Haber (2007). "Fat loss depends on energy deficit only, independently of the method for weight loss." Ann Nutr Metab **51**(5): 428-432.

Sullivan, K. E., A. B. Reddy, K. Dietzmann, A. R. Suriano, V. P. Kocieda, M. Stewart and M. Bhatia (2007). "Epigenetic regulation of tumor necrosis factor alpha." Mol Cell Biol **27**(14): 5147-5160.

Szulc, P., K. Naylor, N. R. Hoyle, R. Eastell, E. T. Leary and P. National Bone Health Alliance Bone Turnover Marker (2017). "Use of CTX-I and PINP as bone turnover markers: National Bone Health Alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability." Osteoporos Int **28**(9): 2541-2556.

Tejada, S., S. Pinya, M. Del Mar Bibiloni, J. A. Tur, A. Pons and A. Sureda (2017). "Cardioprotective Effects of the Polyphenol Hydroxytyrosol from Olive Oil." Curr Drug Targets **18**(13): 1477-1486.

Thandapilly, S. J., P. Raj, X. L. Louis, D. Perera, P. Yamanagedara, P. Zahradka, C. G. Taylor and T. Netticadan (2017). "Canola oil rich in oleic acid improves diastolic heart function in diet-induced obese rats." J Physiol Sci **67**(3): 425-430.

Tintut, Y., S. Morony and L. L. Demer (2004). "Hyperlipidemia promotes osteoclastic potential of bone marrow cells ex vivo." Arterioscler Thromb Vasc Biol **24**(2): e6-10.

Tracy, L. M., F. Bergqvist, E. V. Ivanova, K. T. Jacobsen and K. Iverfeldt (2013). "Exposure to the saturated free fatty acid palmitate alters BV-2 microglia inflammatory response." J Mol Neurosci **51**(3): 805-812.

Vannice, G. and H. Rasmussen (2014). "Position of the academy of nutrition and dietetics: dietary fatty acids for healthy adults." J Acad Nutr Diet **114**(1): 136-153.

Varma, V., A. Yao-Borengasser, N. Rasouli, G. T. Nolen, B. Phanavanh, T. Starks, C. Gurley, P. Simpson, R. E. McGehee, Jr., P. A. Kern and C. A. Peterson (2009). "Muscle inflammatory response and insulin resistance: synergistic interaction between macrophages and fatty acids leads to impaired insulin action." Am J Physiol Endocrinol Metab **296**(6): E1300-1310.

Vassiliou, E. K., A. Gonzalez, C. Garcia, J. H. Tadros, G. Chakraborty and J. H. Toney (2009). "Oleic acid and peanut oil high in oleic acid reverse the inhibitory effect of insulin

production of the inflammatory cytokine TNF-alpha both in vitro and in vivo systems." Lipids Health Dis **8**: 25.

vdek. (2019). "Entwicklung der Lebenserwartung bei Geburt in Deutschland nach Geschlecht in den Jahren von 1950 bis 2060 (in Jahren) " Retrieved 23.Nov, 2019, from <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/273406/umfrage/entwicklung-der-lebenserwartung-bei-geburt--in-deutschland-nach-geschlecht/>.

Walsh, M. C. and Y. Choi (2014). "Biology of the RANKL-RANK-OPG System in Immunity, Bone, and Beyond." Front Immunol **5**: 511.

Wang, Y., P. Buckendahl, K. Sharma, J. W. Miller and S. A. Shapses (2018). "Expression of vitamin D hydroxylases and bone quality in obese mice consuming saturated or monounsaturated enriched high-fat diets." Nutr Res **60**: 106-115.

Warren, J. T., W. Zou, C. E. Decker, N. Rohatgi, C. A. Nelson, D. H. Fremont and S. L. Teitelbaum (2015). "Correlating RANK ligand/RANK binding kinetics with osteoclast formation and function." J Cell Biochem **116**(11): 2476-2483.

Weisberg, S. P., D. McCann, M. Desai, M. Rosenbaum, R. L. Leibel and A. W. Ferrante, Jr. (2003). "Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue." J Clin Invest **112**(12): 1796-1808.

Welter, K. C., C. M. Martins, A. S. de Palma, M. M. Martins, B. R. Dos Reis, B. L. Schmidt and A. Saran Netto (2016). "Canola Oil in Lactating Dairy Cow Diets Reduces Milk Saturated Fatty Acids and Improves Its Omega-3 and Oleic Fatty Acid Content." PLoS One **11**(3): e0151876.

Wilson, R. A., W. Deasy, C. G. Stathis, A. Hayes and M. B. Cooke (2018). "Intermittent Fasting with or without Exercise Prevents Weight Gain and Improves Lipids in Diet-Induced Obese Mice." Nutrients **10**(3).

Wolf, H. F., K. H. Rateitschak and E. M. Rateitschak (2004). Farbatlant der Zahnmedizin 1 Parodontologie. Stuttgart [u.a.], Thieme.

World Health Organization (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic, World Health Organization.

- Wu, Y., G. Dong, W. Xiao, E. Xiao, F. Miao, A. Syverson, N. Missaghian, R. Vafa, A. A. Cabrera-Ortega, C. Rossa, Jr. and D. T. Graves (2016). "Effect of Aging on Periodontal Inflammation, Microbial Colonization, and Disease Susceptibility." J Dent Res **95**(4): 460-466.
- Yang, Q. S., L. P. He, X. L. Zhou, Y. Zhao, J. Shen, P. Xu and S. Z. Ni (2015). "Kaempferol pretreatment modulates systemic inflammation and oxidative stress following hemorrhagic shock in mice." Chin Med **10**: 6.
- Yilmaz, O. and K. L. Lee (2015). "The inflammasome and danger molecule signaling: at the crossroads of inflammation and pathogen persistence in the oral cavity." Periodontol 2000 **69**(1): 83-95.
- Yin, L., D. Busch, Z. Qiao, M. van Griensven, M. Teuben, F. Hildebrand, H. C. Pape and R. Pfeifer (2018). "Dose-dependent effects of peroxisome proliferator-activated receptors beta/delta agonist on systemic inflammation after haemorrhagic shock." Cytokine **103**: 127-132.
- Yokota, K. (2017). "[Inflammation and osteoclasts]." Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi **40**(5): 367-376.
- Zeng, H. and Q. L. Wan (2016). "[Osteoclast size regulation and its mechanism]." Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi **51**(1): 58-64.

9. Anhang

9.1. Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Parodontitisprävalenz verschiedener Altersgruppen in der DMS IV und V	6
Tab. 2 Übersicht über die am häufigsten vorkommenden Fettsäuren und ihre Eigenschaften.....	18
Tab. 3 Prozentualer Anteil übergewichtiger bzw. adipöser Frauen und Männer in Deutschland ..	24
Tab. 4 Übersicht über die Gruppeneinteilung und durchgeführte Behandlungen	31
Tab. 5 IL-6 Serumkonzentrationen der Versuchsgruppen.....	37
Tab. 6 TNF- α Serumkonzentrationen der Versuchsgruppen.....	41
Tab. 7 Absolut ermittelte CTX Serumkonzentrationen und relative Expression zur Kontrollgruppe in Prozent	42
Tab. 8 Absolut ermittelte OC Serumkonzentrationen und relative Expression zur Kontrollgruppe in Prozent	44
Tab. 9 Absolute P1NP Serumkonzentrationen und relative Expression zur Kontrollgruppe in Prozent	47

9.2. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Klassifikation parodontaler Erkrankungen und Zustände.....	5
Abb. 2 Einflussfaktoren und Pathogenese der Parodontitisentstehung	7
Abb. 3 Virulenzfaktoren des <i>Porphyromonas gingivalis</i>	11
Abb. 4 Schematische Darstellung des Knochenremodelings	14
Abb. 5 Molekulare Mechanismen des OPG/RANKL Systems	16
Abb. 6 Anteil verschiedener Fettsäuren in herkömmlichen Lebensmitteln.....	19
Abb. 7 Gruppeneinteilung und Behandlungen.....	29
Abb. 8 Futterzusammensetzung.....	30
Abb. 9 Übersicht des Studiendesigns im Zeitverlauf.....	32
Abb. 10 Gewichtsverlauf der Gruppen während des Experimentes	35
Abb. 11 Endgewichte der Diäten im Vergleich	36
Abb. 12 Veränderungen der IL-6 Serumspiegel durch verschiedene FS-Diäten.....	38
Abb. 13 Veränderungen der IL-6 Serumspiegel durch Infektion mit <i>P. gingivalis</i>	39
Abb. 14 Relative Veränderungen der CTX Serumspiegel durch verschiedene Fettsäuren	43
Abb. 15 Relative Veränderungen der CTX Serumspiegel durch Infektion mit <i>P. gingivalis</i> .	43
Abb. 16 Relative Veränderungen der OC Serumspiegel durch verschiedene Fettsäuren.....	45
Abb. 17 Relative Veränderungen der OC Serumspiegel durch Infektion mit <i>P. gingivalis</i>	46
Abb. 18 Relative Veränderungen der P1NP Serumspiegel durch verschiedene Fettsäuren....	48
Abb. 19 Relative Veränderungen der P1NP Serumspiegel durch Infektion mit <i>P. gingivalis</i>	48
Abb. 20 Voranschreiten der parodontalen Destruktion durch erhöhte PA-Aufnahme bei Übergewicht.....	55

9.3. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation begleitet und unterstützt haben.

Vor allem gilt mein Dank Frau PD Dr. med. dent. habil. Ulrike Schulze-Späte (Sektion Alterszahnmedizin, Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie) für die Bereitstellung des Dissertationsthemas und die ausgezeichnete Betreuung beim Erstellen der Dissertationsschrift.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. rer. nat. Annika Döding (Forschungslabor Sektion Alterszahnmedizin) für die jeder Zeit hervorragende wissenschaftliche Beratung und Betreuung bei der Datenerhebung sowie immer ein offenes Ohr und viel Geduld für jegliches praktische oder theoretische Anliegen.

Des Weiteren möchte ich mich bei allen Mitarbeitern und Laborpartnern bedanken, die mit mir gemeinsam den Tierversuch durchführten.

Zu guter Letzt danke ich meinen lieben Eltern, meinen Großeltern und meinem Partner aus tiefstem Herzen für ihre finanzielle und moralische Unterstützung, vor allem jedoch für ihre unermüdlichen Ermutigungen und Zusprüche während der Arbeit an dieser Dissertation. Ohne euren Rückhalt wäre das Ganze nicht möglich gewesen.

9.4. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

- Frau PD Dr. med. dent. habil. Ulrike Schulze-Späte
- Frau Dr. rer. nat. Annika Döding

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 20.02.2020

Viktoria Katharina Iffarth